



การคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสำหรับควบคุมเชื้อ

RALSTONIA SOLANACEARUM SMITH

ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวดาหลา



วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
วิทยาลัยนวัตกรรมการเกษตรและเทคโนโลยีอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2567



**SCREENING AND IDENTIFICATION OF ANTAGONISTIC BACTERIA
TO CONTROL *RALSTONIA SOLANACEARUM* SMITH CAUSING
BACTERIAL WILT DISEASE IN TORCH GINGER**

BY

ASEEYAN DEARAMAE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

COLLEGE OF AGRICULTURAL INNOVATION AND FOOD

GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY

ACADEMIC YEAR 2024

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสำหรับควบคุมเชื้อ

RALSTONIA SOLANACEARUM SMITH

ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวดาหลา

โดย

อาชีวัน คีอราแม

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2567

ดร. รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล
ประธานกรรมการสอบ

ดร. กฤตพร รำจวนเกียรติ
กรรมการ

ดร. หทัยรัตน์ อุไรรงค์
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ศ. ดร. สৌจิตต์ เพ็ชรประสาน)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

30 พฤษภาคม 2568

Thesis entitled

**SCREENING AND IDENTIFICATION OF ANTAGONISTIC BACTERIA
TO CONTROL *RALSTONIA SOLANACEARUM* SMITH CAUSING
BACTERIAL WILT DISEASE IN TORCH GINGER**

by

ASEEYAN DEARAMAE

was submitted in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Master of Science in Biotechnology

Rangsit University
Academic Year 2024

Rungnapa Phitaktansakul, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Kittaporn Rumjuankiat, Ph.D.
Member

Hathairat Uairong, Ph.D.
Member and Advisor

Approved by Graduate School

(Prof. Suejit Pechprasarn, Ph.D.)
Dean of Graduate School
May 30, 2025

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ดร. หทัยรัตน์ อุไรรงค์ ที่กรุณาเมตตาให้คำปรึกษาช่วยเหลือในเรื่องงานวิจัย วิชาการ การทำงาน และด้านอื่นๆ ตลอดจนการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับทำวิจัย ให้งานวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล ที่ให้เกียรติและกรุณามาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. กฤตพร รำจวนเกียรติ ให้เกียรติและกรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนตักเตือนในเรื่องการเรียนและเรื่องอื่นๆ

ขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐจิรา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่กรุณาเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์และช่วยเหลือในการการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณพ่อแม่ พี่น้อง ที่คอยสนับสนุนกำลังใจและกำลังใจทรัพย์ นื่องๆ ในห้องปฏิบัติการ ผู้บังคับบัญชา พี่ๆและน้องๆ จากหน่วยงานต้นสังกัด ตลอดจนเพื่อนๆ ที่สนับสนุนในทุกๆด้านให้การเรียนในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

อาชีวัน คีอราแม

ผู้วิจัย

6106077 : อาชีวัน คือราเม
ชื่อวิทยานิพนธ์ : การคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับควบคุมเชื้อ
Ralstonia solanacearum Smith ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวดาหลา
หลักสูตร : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. หทัยรัตน์ อุไรรงค์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับควบคุมโรคเหี่ยวของดาหลาที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* Smith ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินในแปลงปลูกดาหลาได้ทั้งหมด 97 ไอโซเลท จากนั้นทำการคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการได้จำนวน 5 ไอโซเลท ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกชนิดโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA พบว่าไอโซเลท TTYL-14, TTYL-18 และ BTYL-5 มีความคล้ายคลึงกับ *Bacillus subtilis* สำหรับไอโซเลท BTYL-4 และ MGYL-1 มีความคล้ายคลึงกับ *Bacillus amyloliquefaciens* และ *Bacillus altitudinis* ตามลำดับ ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จากนั้นนำมาทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของดาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค 3 สัปดาห์ ต้นดาหลาเริ่มการแสดงอาการของโรคเหี่ยว เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีดัชนีความรุนแรงของโรคตั้งแต่ 40 – 46.67 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีดัชนีความรุนแรงของโรค 80 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์นี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola* และ *Fusarium oxysporum* ที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดก้ำงปลา และโรคเหี่ยวเหลือง ตามลำดับในระดับห้องปฏิบัติการได้ ทั้งนี้ ควรทำการทดสอบเพื่อยืนยันประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของเชื้อปฏิปักษ์นี้ในระดับไร่นาต่อไป

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 105 หน้า)

คำสำคัญ: เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, เชื้อ *Ralstonia solanacearum* Smith, โรคเหี่ยว, ดาหลา

6106077 : Aseeyan Dearamae
 Thesis Title : Screening and Identification of Antagonistic Bacteria to Control
Ralstonia solanacearum Smith Causing Bacterial Wilt Disease in Torch
 Ginger
 Program : Master of Science in Biotechnology
 Thesis Advisor : Hathairat Urairong, Ph.D.

Abstract

This research aimed to screen and identify antagonistic bacteria for controlling bacterial wilt disease in torch ginger caused by *Ralstonia solanacearum* Smith. A total of 97 bacterial isolated were cultured from soil in torch ginger fields. All isolates were screened and tested to inhibit the growth of *R. solanacearum* Smith under laboratory conditions, five isolates were selected based on their highly inhibitory effect. Subsequently, the selected isolates were identified by the 16S rRNA gene sequencing method. The results showed that TTYL-14, TTYL-18, and BTYL-5 isolates were similar to *Bacillus subtilis*, while BTYL-4 and MGYL-1 isolates were similar to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus altitudinis*, respectively. The evaluation antagonist ability showed that all selected isolates had significant potential for controlling tomato wilt disease. Consequently, all selected isolates were tested for controlling wilt disease of torch ginger in a greenhouse. The torch gingers showed wilt symptoms three weeks after inoculating with a causative agent. The results indicated that all five antagonistic bacteria exhibited statistically non-significant differences in controlling wilt disease, with a disease severity index of 40 – 46.7 percent for treated plants, Whereas the control treatment which was untreated with antagonistic isolates showed 80 percent disease severity. Moreover, all antagonistic isolates were tested for their antagonist activity under laboratory conditions against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola* and *Fusarium oxysporum* which were pathogens of anthracnose, corynespora leaf disease and fusarium wilt diseases, respectively. The results demonstrated all the tested isolates exhibited effective inhibition of the growth of these pathogens. However, field tests should be conducted to validate the efficacy of their antagonistic activity in controlling wilt disease.

(Total 105 pages)

Keywords: Antagonistic Bacteria, *Ralstonia solanacearum* Smith, Bacterial Wilt Disease, Torch Ginger

Student's Signature Thesis Advisor's Signature

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย	3
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.5 นิยามศัพท์	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 ดาหลา	6
2.2 โรคพิษ	12
2.3 โรคเหี่ยว	15
2.4 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยา	22
2.5 เชื้อแบคทีเรียปฏิกิริยา	25
2.6 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิกิริยาดังวิธี วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S Ribosomal RNA (16S rRNA)	33
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย	37
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	37
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี	38
3.4 วิธีการทดลอง	39
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	48
บทที่ 4 ผลการวิจัย	49
4.1 ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	49
4.2 ผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ <i>R. solanacearum</i> Smith ในห้องปฏิบัติการ	53
4.3 ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม เชื้อ <i>R. solanacearum</i> Smith ในห้องปฏิบัติการ	54
4.4 ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อราสาเหตุโรคอื่น	56
4.5 ผลการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และเชื้อแบคทีเรีย ปฏิปักษ์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S Ribosomal RNA (16S rRNA)	58
4.6 ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุม โรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ	61
4.7 ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุม โรคเหี่ยวคาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง	64
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	69
5.1 สรุปผลการวิจัย	69
5.2 ข้อเสนอแนะ	70

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	71
ภาคผนวก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี	86
ประวัติผู้วิจัย	105



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	สารละลายสำหรับทำปฏิกิริยา PCR	44
3.2	การตั้งโปรแกรมของเครื่อง PCR	44
4.1	พื้นที่เก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างและจำนวนไอโซเลทเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่แยกจากแปลงคหาลาที่แสดงอาการของโรคเหี่ยว	50
4.2	สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างและจำนวนไอโซเลทเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติที่แยกจากแปลงคหาลาที่ไม่มีการระบาดของโรคเหี่ยว	52
4.3	แสดงแหล่งเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหาร NA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติด้วยวิธี disc diffusion method	55
4.4	ผลการจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ โดยเปรียบเทียบความเหมือนของยีนส่วน 16S rRNA กับเชื้อแบคทีเรียในฐานข้อมูล NCBI database	60
4.5	สรุปลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติที่ได้รับการคัดเลือกสำหรับการทดลองต่อไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	60
4.6	คะแนนการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคเหี่ยวจากเชื้อ <i>R. Solanacearum</i> Smith ของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ	63
4.7	คะแนนการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคเหี่ยวคหาลาในสภาพโรงเรือนทดลองด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ	67

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.2	ปัจจัยการเกิดโรคพืช	13
4.1	แปลงคาหลาที่เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว อำเภอธารโต จังหวัดยะลา	50
4.2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (<i>R. solanacearum</i> Smith) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA 48 ชั่วโมง (ก) ไอโซเลท RSYL-1 (ข) ไอโซเลท RSYL-2	51
4.3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (<i>R. solanacearum</i> Smith) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC 48 ชั่วโมง (ก) ไอโซเลท RSYL-1 (ข) ไอโซเลท RSYL-2	51
4.4	แปลงคาหลาที่เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (ก) อำเภอแว้ง จังหวัดนราธิวาส (ข,ค) อำเภอธารโต จังหวัดยะลา	53
4.5	ลักษณะการเกิดความกว้างของบริเวณใส (Clear Zone/ลูกศรชี้) เพื่อแสดงการยับยั้งเชื้อ <i>R. solanacearum</i> Smith ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ด้วยวิธี paper disc diffusion method โดยไอโซเลทที่มีลูกศรชี้จะนำไปทดสอบในการยืนยันผลต่อไป	54
4.6	แสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อปฏิปักษ์ TTYL – 14 (E ₁), TTYL – 18 (E ₂), BTYL-5 (E ₃), BTYL-4 (E ₄) และ MGYL-1 (E ₅) สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค (ก) เชื้อรา <i>Corynespora cassiicola</i> (ข) เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ค) เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	58
4.7	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA 48 ชั่วโมง (ก) TTYL - 14 (ข) TTYL – 18 (ค) BTYL-5 (ง) BTYL-4 (จ) MGYL-1	61

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
4.8	แสดงอาการของต้นมะเขือเทศหลังเพาะเมล็ด 30 วัน ในแต่ละกรรมวิธี (ก) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL – 14) (ข) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL – 18) (ค) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (BTYL – 5) (ง) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. amyloliquefaciens</i> (BTYL – 4) (จ) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. altitudinis</i> (MGYL – 1) (ฉ) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดไม่คลุกเชื้อปฏิปักษ์ (กรรมวิธีควบคุม)	64
4.9	แสดงอาการของต้นดาหลา หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว 4 สัปดาห์ (ก) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL – 14) (ข) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL – 18) (ค) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (BTYL – 5) (ง) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. amyloliquefaciens</i> (BTYL – 4) (จ) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. altitudinis</i> (MGYL – 1) (ฉ) ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith (กรรมวิธีควบคุม)	68

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* Smith สามารถพบการเข้าทำลายพืชได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไป เช่น พื้นที่ปลูกพืช มะเขือเทศ รวมถึงการเข้าทำลายพืชยืนต้น ตั้งแต่ไม้เนื้อแข็งจนถึงไม้ทรงพุ่ม เช่น ยูคาลิปตัส เป็นเชื้ออาศัยอยู่ในดิน (Soil Borne Pathogen, Soil Inhabitant) เข้าทำลายต้นและรากพืช และแพร่กระจายไปทั่วต้นพืช (Systemic) ผ่านเซลล์ท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) ต้นพืชจะเกิดอาการเหี่ยวถึงตาย จากการศึกษาค้นคว้าสมบัติทางชีววิทยา และนิเวศวิทยาของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ที่มีความผันแปรสูงทำให้ได้ข้อมูลการควบคุมและป้องกันเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพก่อนข้างยาก การสร้างความเสียหายต่อพืชแต่ละชนิดขึ้นประกอบด้วยปัจจัยหลายประการ เช่น พันธุ์ สภาพแวดล้อม อายุของพืช และปริมาณเชื้อสาเหตุโรคในดิน ซึ่งมีวิธีป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวหลายวิธี แต่การใช้สารเคมีสามารถป้องกันและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวได้น้อย และไม่คุ้มต่อการลงทุน (ตันติมา กำลัง, 2540) การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันและควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีงานวิจัยเพื่อทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith โดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในมะเขือเทศ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีการควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับการศึกษาควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวมันฝรั่งด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* Ehrenberg. สามารถควบคุมการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (วงศ์ บุญสืบสกุล, ญัญฐิมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ ธรรมกิตรัตน์, และรุ่งนภา คงสุวรรณ, 2549) และเมื่อศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวของพืช มะเขือเทศด้วยเชื้อ *Bacillus* spp. พบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพดี เช่นเดียวกัน (ญัญฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์, และทัศนพร ทศกร, 2547) ดังนั้นการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินพืชหรือดินในแปลงปลูกพืชไปใช้ประโยชน์ในการยับยั้งควบคุมการระบาดและแพร่กระจายของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในคาหลาได้

ปัจจุบันเกษตรกรปลูกดาหลาเป็นไม้ตัดดอกเพื่อการค้าเพิ่มมากขึ้น เช่น จังหวัดนนทบุรี สมุทรสาคร กาญจนบุรี ระยอง จันทบุรี และกระบี่ เป็นต้น โดยราคาจำหน่ายอย่างต่ำดอกละ 20 บาท และราคาต้นพันธุ์หน่อละ 50-300 บาท ขึ้นอยู่กับขนาดและพันธุ์ ประเทศที่นำเข้าดอกดาหลาที่สำคัญ ส่วนใหญ่เป็นประเทศในแถบตะวันออกกลาง และเอเชีย ได้แก่ บาห์เรน สหรัฐอาหรับเอมิเรต คูเวต และสาธารณรัฐประชาชนจีน ส่วนต้นพันธุ์ตลาดที่มีความต้องการสูง ได้แก่ ประเทศแองโกลา สิงคโปร์ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น สเปน และแอฟริกา (นาคยา คำอำไพ และสุทธาชีพ สุกเกสร, 2556)

เมื่อพิจารณาโอกาสของตลาดไม้ตัดดอกในประเทศและต่างประเทศ ในอนาคตมีแนวโน้ม ของความต้องการนำดอกดาหลาไปใช้ประโยชน์ด้านของประดับและสรรพคุณทางยาเพิ่มมากขึ้น (Anzian et al., 2020) ส่งผลให้เกษตรกรมีการขยายพื้นที่ปลูกดาหลาทั่วประเทศ ดังนั้นการศึกษาด้าน ศัตรูพืชของดาหลาจึงมีความจำเป็น โดยเฉพาะการคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏสำหรับ ควบคุมโรคเหี่ยวของดาหลาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith เพื่อเป็นทางเลือกการ ป้องกัน ควบคุม กำจัดการระบาดของโรคลดความเสียหายของผลผลิตและมูลค่าทางเศรษฐกิจในอ นาคตต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อรวบรวม เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) ในดาหลาและ เชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏจากแปลงปลูกดาหลาในพื้นที่เกิดโรคระบาด

1.2.2 เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏที่มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) ในดาหลา

1.2.3 เพื่อศึกษาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S Ribosomal RNA (16S rRNA) จำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏ และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) ในดาหลา

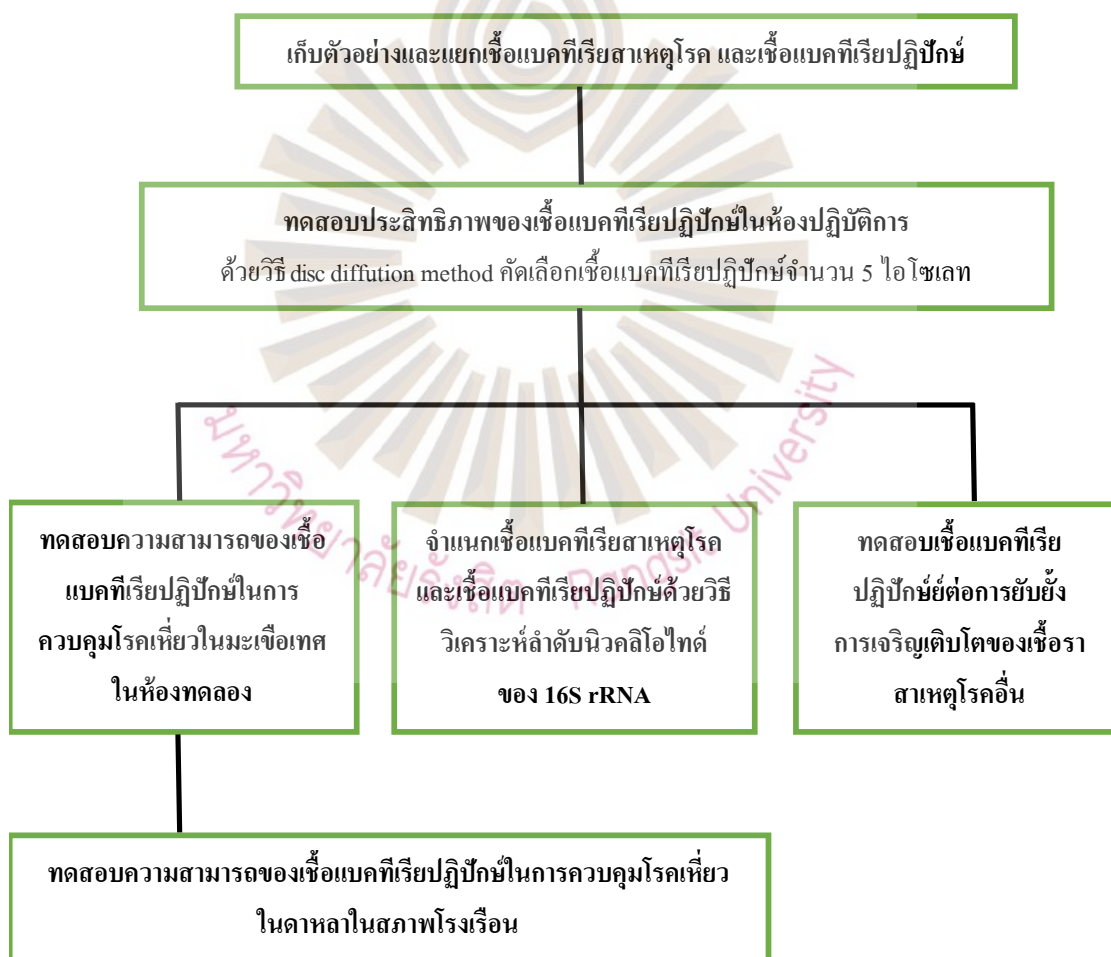
1.2.4 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) ในดาหลาในสภาพโรงเรือน

1.2.5 เพื่อศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคอื่น

1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย

การรวบรวม และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* Smith ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในคาลา จำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับใช้เป็นทางเลือกในการป้องกัน กำจัดเชื้อสาเหตุโรค เพื่อลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจจากการระบาดของโรคเหี่ยวในคาลา

1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.5 นิยามศัพท์

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค คือ แบคทีเรียที่ทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืช โดยการผลิตสารพิษและเอนไซม์ รูปร่างส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแท่งสั้น ๆ และไม่มีการสร้างสปอร์ แต่ผนังด้านนอกเซลล์มีชั้นเมือกหรือแคปซูลห่อหุ้มอีกชั้นหนึ่ง ทำให้สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ จึงมีอายุยืนยาวกว่า เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคบางชนิดมีการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตส่งผลให้เซลล์พืชมีการเจริญผิดปกติ เช่น บวมพอง ปุ่มปม โดยการเข้าทำลายพืชผ่านทางแผลที่เกิดขึ้นตามผิวพืชและหรือทางช่องเปิดตามธรรมชาติ เช่น ปากใบ แต่มักจะถูกยับยั้งการเจริญได้ง่ายโดยสารปฏิชีวนะแทบทุกชนิด และสารประกอบที่มีธาตุทองแดงเป็นส่วนผสม ปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชมีประมาณ 200 ชนิด

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganism) คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการควบคุมจำนวนประชากรหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช และหรือช่วยลดกิจกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชให้เกิดโรคในระดับที่ไม่เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ได้แก่ เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และไวรัส โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อาศัยอยู่ในสภาพธรรมชาติทั่วไป มีหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช และมีคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์แตกต่างกัน บางชนิดเจริญบนผิวดินทำหน้าที่ปกป้องเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย บางชนิดเจริญแพร่กระจายอยู่ในดินเพื่อทำลายส่วนสืบพันธุ์หรือโครงสร้างที่ใช้ขยายพันธุ์เพื่อความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุโรค (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2546, น.15-50) ในลักษณะปรสิต หรือซาโพรไฟต์ เช่น เชื้อราไตรโคเดอร์มา มีการสร้างสารปฏิชีวนะ การแข่งขันเจริญเติบโต การเป็นปรสิต และการชักนำพืชให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค เป็นกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช (สายทอง แก้วฉาย, 2555)

แบคทีเรียปฏิปักษ์ คือ เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรค สามารถครอบครองพื้นที่ มีการทำลาย และหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค และชักนำให้เกิดการต้านทานเชื้อโรคในพืช มีคุณสมบัติในการควบคุมโรคได้ดีต่อส่วนประกอบของพืชที่อยู่เหนือดิน และใต้ดิน เช่น ลำต้น ใบ ดอก ผล ราก ประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับกลไกของเชื้อสาเหตุโรค จำนวนประชากรเชื้อและสภาพแวดล้อม ซึ่งการเลือกใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ให้มีประสิทธิภาพ จึงต้องมีความละเอียดอ่อน และต้องใช้วิธีการที่ถูกต้องและเหมาะสม ปัจจุบันสามารถการผลิตแบคทีเรีย

ปฏิปักษ์หลายชนิด ในเชิงการค้า ได้แก่ บาซิลลัสสกุลต่างๆ เช่น *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens* เป็นต้น นอกจากนี้มีแบคทีเรียอีกหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens*, *Paenibacillus*, *Agrobacterium radiobacter* ซึ่งมีการจำหน่ายในชื่อการค้าที่แตกต่างกัน (สุพจน์ กาเข้ม, 2557)

ชีวภัณฑ์ คือ สิ่งมีชีวิต หรือผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิต คือ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ สำหรับป้องกัน ควบคุม และกำจัดศัตรูพืช แต่ไม่นับรวมสารเคมีเชิงเดี่ยวที่ได้จากการสกัดหรือคัดแยกจากสิ่งมีชีวิตที่ เช่น ไพร่ทรอยด์ นิโคติน อะบาเม็กติน เป็นต้น

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในพื้นที่เกิดโรคระบาด

1.6.2 ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith)

1.6.3 ทราบชนิด และประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการป้องกันและกำจัดแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพในโรงเรือน

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ดาหลา

ดาหลาเป็นพืชท้องถิ่นในภาคใต้ตอนล่าง จัดอยู่ในชั้น (Class) Liliopsida อันดับ (Order) Zingiberales วงศ์ (Family) Zingiberaceae และสกุล (Genus) *Etlingera* มีประมาณ 110 สกุล พบในเอเชียโดยเฉพาะคาบสมุทรมลายู และตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย ในประเทศไทยมีประมาณ 15 สกุล แต่มี 5 สกุล พบในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง ดังนี้

2.1.1 ดาหลา กาหลา หรือกะลา (Torch ginger)

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm. และชื่อพ้อง *Alpinia elatior* Jack เป็นไม้ล้มลุกสูง 3-6 เมตร ใบลักษณะเป็นใบหอกยาวประมาณ 85 เซนติเมตร ข้างละประมาณ 17 ใบ ก้านใบมีความยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร มีความยาวของก้านช่อดอกประมาณ 80-200 เซนติเมตร ฐานดอกยาว 4-9 เซนติเมตร กลีบประดับมีสีแดง ชมพู หรือขาว เรียงซ้อนกันเหลื่อมที่โคนรูปรี วงนอกยาว 5.5-10 เซนติเมตร วงในยาว 4-7.5 เซนติเมตร กลีบประดับย่อยยาวประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร แฉกเล็กด้านเดียว หลอดกลีบเลี้ยงยาว 3-4 เซนติเมตร สีของหลอดกลีบดอกชมพู แดง หรือขาวอมเหลืองในกลีบประดับสีขาว กลีบปากสีแดงเข้มขอบสีเหลืองยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ดังรูปภาคผนวกที่ 1 ช่อผลรูปรี กว้างเกือบกลมหรือรียาวแคบยาว 20 เซนติเมตร ผลย่อย มีลักษณะรูปไข่กว้างยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร ผิวเรียบ มีขนละเอียด สามารถพบได้ทั่วไปในคาบสมุทรมลายู เกาะสุมาตรา และภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทยขึ้นตามป่าดิบชื้น ความสูงระดับต่ำจากระดับน้ำทะเล เป็นไม้ประดับทั่วไปในเขตร้อน ออกดอกตลอดปี

2.1.2 ดาหลาดำ หรือดาหลาหอม (Black tulip torch ginger)

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera fulgens* (Ridl.) C.K.Lim เป็นไม้ล้มลุกสูง 4-5 เมตร เหง้าทอดนอนมีรากค้ำยัน ใบมีข้างละประมาณ 15 ใบ ลักษณะเป็นรูปขอบขนานหรือรูปใบหอกยาวประมาณ 12-96 เซนติเมตร แผ่นใบมีสีเขียวเข้ม ก้านใบยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร เส้นกลางใบมีสีม่วงแดง ช่อดอกประดับสูงประมาณ 5-3.5 เซนติเมตร ความยาวของก้านช่อดอก 100 เซนติเมตร กลีบประดับวงนอกเรียงซ้อนเหลื่อม มีลักษณะเป็นรูปทรงถ้วยยาวประมาณ 8.5-7.5 เซนติเมตร วงในยาว 4-1.5 เซนติเมตร หลอดกลีบดอกยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร กลีบปากยาว 5 เซนติเมตร สีแดงขอบสีเหลือง ช่อผลกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 11-13 เซนติเมตร ดังรูปภาคผนวกที่ 2 ผลย่อยรูปกลมสีเขียว สามารถพบได้ทั่วไปในคาบสมุทรมลายู และพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย โดยขึ้นตามป่าดิบชื้นที่มีระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 200-300 เมตร และออกดอกตลอดปี

2.1.3 ดาหลากุหลาบสยาม หรือดาหลาด้วย (Rose of Siam)

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera corneri* และชื่อพ้อง *Etlingera terengganuensis* saga. C.K.Lim & G.W.Theseira เป็นไม้ล้มลุกสูง 3-4 เมตร ลำต้นมีขนสั้นนุ่ม ใบมีลักษณะเป็นรูปขอบขนานถึงรูปรียาวประมาณ 15-65 เซนติเมตร ข้างละ 10-11 ใบ สีของแผ่นใบด้านล่างเขียวหรือม่วงแดง ก้านใบยาวประมาณ 1-4 เซนติเมตร ฐานดอกสูงประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร วงกลีบประดับเรียงซ้อนเหลื่อมแน่นรูปถ้วยสูงประมาณ 7-9 เซนติเมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร ลักษณะก้านช่อดอกตั้งตรงยาว 90 เซนติเมตร กลีบประดับสีแดง มีลักษณะเป็นรูปขอบขนานหรือแกมรูปไข่ กลีบปลายพับงอ วงนอกยาวประมาณ 6.5-8.5 เซนติเมตร วงในยาว 3.5-7.5 เซนติเมตร กลีบประดับย่อยยาวประมาณ 3.5 เซนติเมตร หลอดกลีบเลี้ยงยาว 4 เซนติเมตร หลอดกลีบดอกยาวประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร กลีบปากตั้งตรงยาวประมาณ 1.6-2.5 เซนติเมตร มีสีขาวแดงโดยขอบสีขาวม้วนออก ช่อผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 เซนติเมตร ดังรูปภาคผนวกที่ 3 ผลย่อยรูปไข่สีขาวเปลี่ยนเป็นสีส้มแดงเกลี้ยงยาวประมาณ 3.5-4 เซนติเมตร สามารถพบได้ในคาบสมุทรมลายู และพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย (ยะลา และนราธิวาส) ขึ้นตามที่ชื้นแฉะ และ ความสูง 200-500 เมตร จากระดับน้ำทะเล เป็นชนิดหายาก ออกดอกปีละครั้ง

2.1.4 ดาหลาด้วย หรือ กาหลอ หรือดาหลากุหลาบมาเลเซีย (Malay rose, Pink porcelain ginger)

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera venusta* (Ridl.) R.M.Sm. และชื่อพ้อง *Hornstedtia venusta* Ridl. เป็นไม้ล้มลุกสูงประมาณ 2.5-4 เมตร ใบมีรูปขอบขนานยาวประมาณ 15-80 เซนติเมตร ข้างละ 10 ใบ แผ่นใบเกลี้ยง ก้านใบสั้นมาก ฐานดอกสูง 2-3 เซนติเมตร ช่อวงกลีบประดับสูง 8-9 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 7-7.5 เซนติเมตร ก้านช่อดอกยาวประมาณ 60-80 เซนติเมตร สีของกลีบประดับชมพูอมม่วงหรือมีเหลืองสีขาวแซม เรียงซ้อนเหลื่อมแน่นรูปถ้วย รูปรีหรือขอบขนานวงนอกยาว 7.5-12 เซนติเมตร ปลายพับงอกลับ วงในแคบกว่ายาวประมาณ 2-8 เซนติเมตร กลีบประดับย่อยยาวประมาณ 3 เซนติเมตร และหลอดกลีบเลี้ยงยาวประมาณ 4 เซนติเมตร หลอดกลีบดอกรูปแถบยาว 1-1.2 เซนติเมตร กลีบปากตั้งตรงยาว 2-2.2 เซนติเมตร โคนมีสีขาวเหลืองสีแดง ดังรูปภาคผนวกที่ 4 ลักษณะช่อผลกลมกว้าง มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 13-15 เซนติเมตร ผลย่อยรูปไข่ ปลายเรียวสีแดง เกลี้ยงยาวประมาณ 5 เซนติเมตร คล้ายกับ *Etlingera corneri* แต่มีก้านใบสั้นมาก และไม่มีใบประดับที่ผล สามารถพบได้คาบสมุทรมาลายู เกาะสุมาตรา และพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย (ยะลา) ขึ้นตามป่าดิบชื้น พื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่มากนัก เป็นชนิดหายาก และออกดอกปีละครั้ง

2.1.5 ดาหลาขี้แมว (Malay rose)

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera maingayi* (Baker) R.M.Sm. และชื่อพ้อง *Amomum maingayi* (Baker) เป็นไม้ล้มลุกสูง 3 เมตร เหง้าทอดนอนมีรากค้ำยัน ใบมีลักษณะเป็นรูปขอบขนานหรือรูปใบหอกยาว 65 เซนติเมตร ข้างละ 17 ใบ สีของแผ่นใบมีปื้นน้ำตาลอมชมพู ก้านใบสั้นแต่ฐานดอกสูงประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร ช่อวงกลีบประดับสูง 2-3 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ก้านช่อดอกยาวประมาณ 100 เซนติเมตร กลีบประดับวงนอกเรียงซ้อนเหลื่อมรูปถ้วยยาว 3-4 เซนติเมตร ด้านนอกมีขนหนาแน่น วงในแคบกว่า สีน้ำตาลแดงยาว 3-3.5 เซนติเมตร ใบประดับย่อยยาวประมาณ 2 เซนติเมตร หลอดกลีบเลี้ยงยาว 2.5-3 เซนติเมตร หลอดกลีบดอกยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร กลีบปากสีชมพูตั้งตรงเมื่อบานออกยาว 1.5-2 เซนติเมตร ช่วงโคนมีเหลืองสีแดง ขอบขาว เซนติเมตร ดังรูปภาคผนวกที่ 5 ช่อผลกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-7 เซนติเมตร ผลย่อยรูปไข่สีแดงสด เกลี้ยงยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร สามารถพบได้ในคาบสมุทรมาลายู และพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย (ยะลา) ขึ้นตามป่าดิบชื้น พื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่มากนัก

เป็นชนิดหายาก ออกดอกปีละครั้ง (Choon & Ding, 2016; Juwita, Puspitasari, & Levita, 2018; Khaw, 2001)

นอกจากนี้ สถาบันวิจัยพืชสวน (2556) กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มีการปรับปรุงพันธุ์ดาหลาให้มี รูปร่าง สี สัน ตรงความต้องการของตลาด และได้พันธุ์แนะนำ จำนวน 8 พันธุ์ ได้แก่

ดาหลาพันธุ์ตรัง 1 ลำต้นและใบมีสีเขียว สีของช่อดอกขาว เมื่อมีอายุ 3 ปีหลังปลูกสามารถให้ ผลผลิตดอก 39 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอให้หน่อใหม่ 43 หน่อต่อกอต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 7 วัน

ดาหลาพันธุ์ตรัง 2 ลำต้นและใบมีสีเขียว สีของช่อดอกบานเย็น เมื่อมีอายุ 3 ปีหลังปลูกให้ผล ผลิตดอก 40 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอให้หน่อใหม่ 28 หน่อต่อกอต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 8 วัน

ดาหลาพันธุ์ตรัง 3 ลำต้นและใบมีสีเขียว สีของช่อดอกแดง เมื่อมีอายุ 3 ปีหลังปลูกให้ผล ผลิตดอก 106 ดอก ต่อกอต่อปี การแตกกอให้หน่อใหม่ 43 หน่อต่อกอต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 7 วัน

ดาหลาพันธุ์ตรัง 4 ลำต้นมีและใบมีสีเขียว สีของช่อดอกชมพู เมื่อมีอายุ 3 ปีหลังปลูกให้ผล ผลิตดอก 136 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอให้หน่อใหม่ 53 หน่อต่อกอต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 7-8 วัน

ดาหลาพันธุ์ตรัง 5 ลำต้นและใบมีสีเขียวปนม่วงแดง สีของช่อดอกแดงเข้ม เมื่อมีอายุ 3 ปี หลังปลูก ให้ผลผลิตดอก 47 ดอก ต่อกอต่อปี การแตกกอให้หน่อใหม่ประมาณ 36 หน่อต่อกอต่อปี ดอกบาน 30 เปอร์เซนต์ มีอายุปักแจกันนาน 14 วัน และ 50 เปอร์เซนต์ มีอายุปักแจกันนาน 11 วัน

ดาหลาลูกผสมพันธุ์ยะลา 1 ลำต้นมีสีเขียวอ่อนอมเหลือง สีของท้องใบเขียวอมเหลือง ผิวใบสีเขียวอมเหลือง ช่อดอกมีรูปทรงถ้วยสีแดงเข้ม กลีบประดับมีลักษณะหนาเรียงเป็นระเบียบ คล้ายดอกบัว สีของก้านช่อดอกแดงอมเขียว ช่อดอกกว้างมีความยาวประมาณ 7.58×7.73 เซนติเมตร น้ำหนักดอกเฉลี่ย 133.29 กรัม หลังปลูก 3 ปีให้ผลผลิตดอก 386 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอเฉลี่ย 39 ต้นต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 5 วัน

ดาหลาลูกผสมพันธุ์ยะลา 2 ลำต้นสีเขียวเขียวอ่อนอมเหลือง ท้องใบสีม่วงอมเทา ผิวใบ สีเขียว ช่อดอกมีรูปทรงถ้วยสีแดงอมส้ม ขอบกลีบประดับสีเขียวอ่อนมีลักษณะเรียงซ้อนหลายชั้น เรียงเป็นระเบียบคล้ายดอกบัว สีของก้านช่อดอกเขียวอมเหลืองขนาดกว้างและยาว 7.02×7.39 เซนติเมตร น้ำหนักดอกเฉลี่ย 98.00 กรัม การแตกกอเฉลี่ย 42 ต้น หลังปลูก 3 ปี ให้ผลผลิต 300 ดอก ต่อกอต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 6 วัน

ดาหลาลูกผสมพันธุ์ยะลา 3 ลำต้นสีเขียวเขียวอ่อน ท้องใบสีม่วงอมเทา ผิวใบสีเขียวอม เหลือง ช่อดอกมีรูปทรงถ้วยสีแดงสด สีของขอบกลีบประดับขาวมีลักษณะเรียงเป็นระเบียบคล้าย ดอกบัว สีของก้านช่อดอกเขียวอมเหลืองขนาดกว้างและยาว 8.29×8.66 เซนติเมตร น้ำหนักดอก

เฉลี่ย 157.86 กรัม หลังปลูก 3 ปี ให้ผลผลิต 227 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอเฉลี่ย 47 ต้นต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 5 วัน

ดาหลาลูกผสมพันธุ์ละ 4 ลำต้นสีเขียวเขียวอ่อนอมเหลือง ท้องใบสีม่วงอมเทา ผิวใบสีเขียว ช่อดอกมีรูปทรงถ้วยสีชมพูอมแดง กลีบประดับหนาและมีสีขาวเรียงเป็นระเบียบคล้ายดอกบัว สีของก้านช่อดอกเขียวอมเหลือง ขนาดกว้างและยาว 8.07 x 7.93 เซนติเมตร น้ำหนักดอกเฉลี่ย 135.39 กรัม ปีหลังปลูก 3 ปี ให้ผลผลิต 280 ดอกต่อกอต่อปี การแตกกอเฉลี่ย 46 ต้นต่อปี มีอายุปักแจกันนาน 6 วัน

2.1.6 การปลูกดาหลาและการปฏิบัติดูแลรักษา

ดาหลาเป็นพืชที่ปลูกและให้ผลผลิตได้ดีในดินร่วนที่มีความอุดมสมบูรณ์ สามารถอยู่ได้ในพื้นที่ที่มีแสงรำไรและมีแสงแดดตลอดวัน อุณหภูมิที่เหมาะสมเฉลี่ย 27-33 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 60-81 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 2,144 มิลลิเมตรต่อปี สามารถปลูกได้ทุกฤดู หากมีการติดตั้งระบบน้ำ ช่วงที่เหมาะสมเดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคม แต่มีข้อจำกัด คือ ควรหลีกเลี่ยงการปลูกบนพื้นที่ที่มีน้ำท่วมขัง และพื้นที่ที่เคยมีประวัติการระบาดของโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith และหรือเคยปลูกพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าว เช่น มะเขือเทศ มันฝรั่ง พืชตระกูลขิง งามาสูบ ถั่วลิสง และปทุมมา

2.1.6.1 การเตรียมดิน เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินควรอยู่ระหว่าง 5.5-6.0 ไถพรวนดิน 2 ครั้ง กำหนดระยะปลูก 3 x 3 เมตร เพื่อให้แปลงปลูกได้รับแสงเพียงพอ หรือประมาณ 177 ต้นต่อไร่ ขุดหลุมขนาด 50x50x50 เซนติเมตร ผสมดินปลูกใส่ในหลุม โดยใช้ดินชั้นบนที่ขุดจากหลุม: แกลบดิบ: ปุ๋ยคอก อัตรา 2: 1: 1 โดยปริมาตร และใช้แกลบดิบ 1 ส่วนสำหรับรองก้นหลุม แล้วนำดินปลูกที่เหลือใส่ลงในหลุมให้เต็มและสูงขึ้นมาจากปากหลุมแหลมเป็นรูปสามเหลี่ยม

2.1.6.2 การขยายพันธุ์ ได้แก่ การแยกหน่อ การเพาะเมล็ด และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Rodrigues, Destéfano, Diniz, Comparoni, & Neto, 2011) วิธีที่นิยม คือ การแยกหน่อ สามารถขยายต้นพันธุ์ได้ง่าย ต้นทุนต่ำ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีต้นทุนสูง (นนทร จันทรแสง, 2561)

2.1.6.3 การเตรียมต้นพันธุ์ และการปลูก ควรเลือกหน่อที่มีใบติดประมาณ 4 คู่ใบ ต้องตัดหน่อที่มีเหง้าและรากติดมาด้วย เหง้ามีความยาวประมาณ 5 นิ้ว กรณีใช้ต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องมีอายุ 4-5 เดือน นำไปปลูกในหลุมที่เตรียมไว้ ก่อนปลูกให้รองก้นหลุม

ด้วยปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 อัตรา 30-50 กรัมต่อหลุม กลบหลุมให้ดินมีความสูงประมาณ 6 นิ้ว จากนั้นรดน้ำให้ชุ่ม จากนั้นใช้ไม้หลักผูกติดกับลำต้นป้องกันต้นโยก

2.1.6.4 การปฏิบัติดูแลรักษา ควรกำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูก และบริเวณรอบๆ โคนต้นให้สะอาดเสมอ ควรตัดแต่งทางใบที่เหี่ยว (ลำต้นเทียม) 4 ครั้งต่อปี โดยตัดต้นทางใบที่เหี่ยว ทางใบที่มีการทำลายของโรคแมลงออกทิ้งอย่างสม่ำเสมอ และตัดทางใบออกให้มีพื้นที่สังเคราะห์แสงให้เหลือทางใบต่อกอ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุหลังปลูก 1-2 ปี และตัดทางใบให้เหลือต่อกอ 50-60 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุหลังปลูก 3 ปีขึ้นไป การให้ปุ๋ย จำนวน 4 ครั้งต่อปี ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 เมื่ออายุหลังปลูก 3 เดือน อัตรา 50-100 กรัมต่อกอ อายุหลังปลูก 8-12 เดือนก่อนแตกตาดอก อัตรา 150-300 กรัมต่อกอ และอายุ 3 ปีขึ้นไป ใช้ อัตรา 400-600 กรัมต่อกอ เดือนธันวาคมถึงมกราคม หรือ กรกฎาคมถึงสิงหาคม) ใส่ปุ๋ยคอกรอบกอต้น 1 ครั้งต่อปี อัตรา 5-10 กิโลกรัมต่อกอ (เดือนมีนาคมถึงเมษายน) การให้น้ำช่วงแรกหลังจากปลูกในแปลงให้น้ำทุกวันอัตรา 7-10 ลิตรต่อกอต่อครั้งต่อวัน จนกระทั่งอายุหลังปลูก 3 เดือน อายุหลังปลูก 6-12 เดือน ให้น้ำวันเว้นวัน อัตรา 15-20 ลิตรต่อกอต่อครั้งต่อวัน และอายุหลังปลูก 1-2 ปีขึ้นไปให้น้ำ 3 วันต่อครั้ง อัตรา 20-30 ลิตรต่อดันต่อครั้งต่อวัน โดยให้น้ำแบบระบบฝอยหัวมินิ (Mini-sprinkler) หมุนรอบทิศทาง 1 หัวต่อกอ (หากฝนไม่ตก) อัตราการไหลของน้ำจากหัว Mini-sprinkler หมุนรอบทิศทาง 1 นาที่เท่ากับ 1.07 ลิตร

2.1.6.5 การเก็บเกี่ยว โดยสามารถเก็บเกี่ยวดอกดาหลาที่มีอายุประมาณ 45-60 วัน นับจากแทงตาดอก โดยเก็บช่วงเวลาเช้า ให้ตัดก้านดอกชิดกับโคนต้น แล้วนำดอกแช่ในถังน้ำสะอาดที่เตรียมไว้ จากนั้นใช้ถุงพลาสติกใสห่อแต่ละดอกเพื่อป้องกันการเหี่ยวและกลีบดอกเปื่อยช้ำ รวมถึงป้องกันดอกดาหลาช้ำระหว่างการขนส่ง (นนทกร จันทร์แสง, 2561)

2.1.7 โรคและแมลงศัตรู

2.1.7.1 โรคที่เกิดจากเชื้อรา *Gloeosporium* sp. ใบประดับและกลีบดอกดาหลาเป็นจุดสีน้ำตาลเป็นแผลวงกลมหรือวงรี และบางแผลอาจติดกันจนเป็นแผลขนาดใหญ่ (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2544, น. 45-75)

2.1.7.2 โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith เริ่มแรกต้นดาหลาจะแสดงอาการใบม้วนห่อ และเหี่ยว จากส่วนยอดจนเหี่ยวทั้งกอ สีของใบซีด ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้ง ภายในเวลาไม่กี่วัน ลำต้นเมื่อผ่าดูลักษณะภายในลำต้นเทียม ท่อน้ำ ท่ออาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เหง้าเปื่อย แต่ไม่มีกลิ่นเหม็น

2.1.7.3 แมลงศัตรู ได้แก่ หนอนเจาะทำลายลำต้น นอกจากนั้น มดแดงจะขบถ่ายกรดทำให้กลีบดอกของดาหลาเกิดรอยขาวเป็นจุด หนอนกินใบ (*Attacus atlas* Linn.) มีขนาดใหญ่และปริมาณไม่มาก

2.2 โรคพืช

โรคพืช (Plant Disease) หมายถึง พืชมีอาการผิดปกติที่เกิดจากธรรมชาติ หรือเกิดความเสียหายของอวัยวะพืช ได้แก่ ลำต้น ราก กิ่ง และใบ ซึ่งอาการดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ละระยะ รวมถึงปริมาณและคุณภาพของผลผลิต

2.2.1 ปัจจัยการเกิดโรคพืช

ประกอบด้วย 5 ปัจจัย คือ

2.2.1.1 พืชอาศัย (Host) การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคจะมีความรุนแรงและความรวดเร็วขึ้นอยู่กับสายพันธุ์พืชที่มีระดับต้านทานน้อยหรือมีความอ่อนแอทางพันธุกรรมของพืชอาศัย ดังนั้นการปลูกพืชที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (การปลูกพืชเชิงเดี่ยว) มีโอกาสระบาดมากกว่าการปลูกพืช ที่มีพันธุกรรมหลากหลาย และมีโอกาสทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชพัฒนา race ใหม่มากขึ้น นอกจากนี้ชนิดและอายุของพืชมีผลต่อความต้านทานโรค

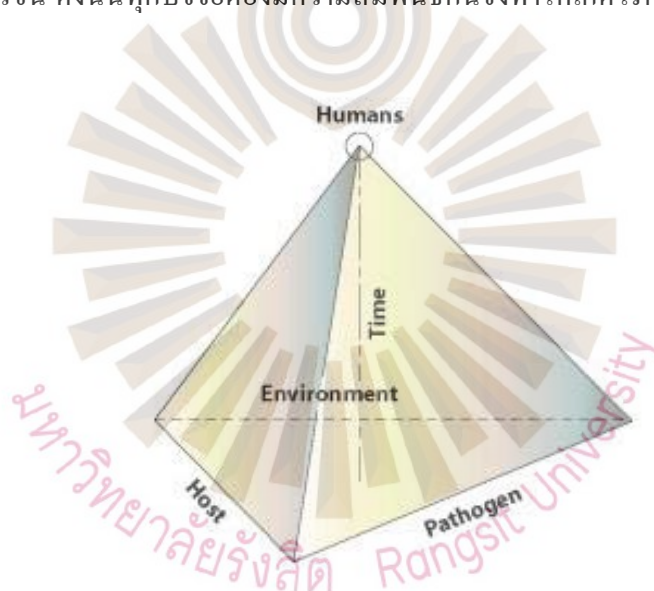
2.2.1.2 เชื้อสาเหตุโรคพืช (Pathogen) ระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคพืช ถ้าเป็นสายพันธุ์รุนแรงจะทำให้เกิดการระบาดของโรคได้เร็วกว่าเชื้อที่มีความรุนแรงน้อยกว่า เช่นเดียวกันกับปริมาณเชื้อมาก ทำให้เกิดการระบาดของโรคมก นอกจากนั้นรูปแบบในการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรค นิเวศวิทยาและการแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรค มีส่วนสำคัญในการก่อให้เกิดโรคพืช

2.2.1.3 สภาพแวดล้อม (Environment) ได้แก่ ความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค ส่งผลให้เกิดและระบาดของโรคพืช รวมถึงวิถีปฏิบัติของมนุษย์ในการทำการเกษตร เพราะสภาพแวดล้อมมีผลต่อจำนวนการเจริญเติบโต ลักษณะของเนื้อเยื่อและความอ่อนแอของพืชอาศัย และมีผลต่อการอยู่รอด การสร้างส่วนขยายพันธุ์ การแพร่กระจาย การงอกของสปอร์ และการเข้าทำลายพืชของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ นอกจากนี้สภาพแวดล้อมมีผลต่อจำนวนและการเคลื่อนไหวของพาหะนำโรค

2.2.1.4 ระยะเวลา (Time) การเกิดโรคในช่วงเวลาหนึ่ง และระยะเวลาที่เกิดโรคมีผลต่อปริมาณโรค ความถี่ ช่วงเวลาที่พาหะนำโรคปรากฏ และระยะเวลาที่เชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายพืช

2.2.1.5 มนุษย์ (Humans) มนุษย์มีบทบาทในการเกิดหรือลดการระบาดของโรคพืชได้จากการเกษตรกรรม การเลือกพื้นที่เพาะปลูกพันธุ์พืช ช่วงเวลาการปลูก การจัดการและดูแลรักษาแปลง การนำเชื้อสาเหตุโรคใหม่เข้ามาในพื้นที่เพาะปลูกพืช การเลือกวิธีควบคุมโรคพืช เป็นต้น

ปัจจัยการเกิดโรคพืชต้องมีความสัมพันธ์กันหรือมีปฏิสัมพันธ์กันจึงจะเกิดโรคพืชได้ เช่น พืชอาศัยอ่อนแอ เชื้อสาเหตุโรคพืชมีความรุนแรงประกอบกับสภาวะแวดล้อมและเวลาการเกิดโรคที่เหมาะสม เชื้อสาเหตุโรคจึงเข้าทำลายหรือสร้างความเสียหาย และเกิดโรคกับพืชได้ หากพืชอาศัยเป็นพันธุ์ต้านทาน เชื้อสาเหตุโรคไม่รุนแรงและสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมไม่สามารถก่อโรคได้ โรคพืชจึงไม่มีการระบาด ทั้งนี้การปฏิบัติของเกษตรกรเป็นหนึ่งปัจจัยช่วยให้เกิดการระบาดได้รวดเร็วขึ้น ดังนั้นทุกปัจจัยต้องมีความสัมพันธ์กันจึงทำให้เกิดโรคพืชนั้นๆ ได้ ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ปัจจัยการเกิดโรคพืช

ที่มา : Agrios, 2005

2.2.2 ประเภทของโรคพืช

แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

2.2.2.1 โรคพืชที่ไม่มีการติดเชื้อ (Non-Infectious Plant Disease) มีสาเหตุมาจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ แสงแดด ความชื้น หรือสรีรวิทยาของพืชเกิดความผิดปกติจากการรับหรือขาดธาตุอาหารมากหรือน้อยเกินไป การเป็นพิษของสารเคมี ความชื้นในดินสูง เป็นต้น

2.2.2.2 โรคพืชที่มีการติดเชื้อ (Infectious Plant Disease) มีสาเหตุมาจากเชื้อสาเหตุโรคต่าง ๆ (Pathogen) ได้แก่ เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ ไฟโตพลาสมา ไส้เดือนฝอย รวมถึงพืชชั้นสูงที่เป็นปรสิต โดยเชื้อเหล่านี้จะไปแย่งแย่งสารอาหารภายในเซลล์พืช แล้วมีการปลดปล่อยสารที่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ทำให้พืชอ่อนแอและเชื้อสาเหตุโรคอื่น ๆ สามารถเข้าไปทำลายพืชได้

อาการของโรคพืชจากสาเหตุต่าง ๆ จะส่งผลให้การแสดงออกของโรคพืช แต่ลักษณะมีอาการที่แตกต่างกัน เชื้อสาเหตุโรคบางชนิดมีการแสดงออกเฉพาะตัวทำให้ง่ายต่อการวินิจฉัย แต่บางชนิดต้องอาศัยหลายองค์ประกอบในการวินิจฉัย โดยอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคต่าง ๆ มีลักษณะ ดังต่อไปนี้

(1) โรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อรา พืชอาจแสดงอาการเน่าหรือยุ่ย โดยเฉพาะที่ผลหรือลำต้น หรืออาจมีเนื้อเยื่อบางส่วนตาย มักพบเชื้อราบริเวณแผลที่เกิดโรคหรือพื้นผิวพืช เช่น เส้นใย สปอร์หรือโครงสร้างห่อหุ้มสปอร์เป็นโรคสามารถมองเห็นสาเหตุของเชื้อโรคได้ด้วยตาเปล่า เช่น โรคราน้ำค้าง โรคราแป้ง โรคราเขม่าดำ โรคราสนิม โรคราดำ และโรคเหี่ยวหรือเน่าจากเชื้อรา

(2) โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พืชมักจะแสดงอาการเน่าเหี่ยวหรือใบจุด ระยะแรกเซลล์พืชจะแสดงอาการน้ำมีของเหลวไหลออกจากแผล มีทั้งที่เป็นแบบเฉพาะที่ และแบบกระจาย เป็นโรคที่ไม่สามารถมองเห็นเชื้อสาเหตุโรคได้ด้วยตาเปล่า เช่น โรคเหี่ยว โรคแคงเกอร์ โรคใบจุด โรคใบจุดนูน โรคใบไหม้ เป็นต้น

(3) โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา การเจริญเติบโตของพืชผิดปกติ เช่น ใบเล็ก ใบพุ่มไม้กวาด อาการของโรคใบขาวดอกเหี่ยว และพุ่มแจ้หรือพุ่มฝอย โรคที่เกิดเชื้อไฟโตพลาสมา มีการแพร่กระจายผ่านพาหะและท่อนพันธุ์

(4) โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสและเชื้อไวรอยด์ ส่วนใหญ่พืชจะแสดงลักษณะอาการคล้ายกับขาดธาตุอาหาร โดยอาการเริ่มแสดงส่วนยอดของพืชก่อน พืชที่มีอาการใบด่างจุดวงแหวน ใบหงิกงอ เกิดจากกลุ่มเชื้อไวรัส แต่อาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์

พืชจะมีการกระแสรูปร่าง เซลล์ตายอย่างไหล ใบจุดเหลืองซีด ต้นโทรม ขนาดดอกหรือผลผิดปกติ ทั้งนี้ เชื้อทั้งสองกลุ่มไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และเชื้อไวรัสส่วนใหญ่ทำให้พืชแสดงอาการของโรคแบบแพร่กระจาย

(5) โรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย พืชจะเกิดอาการรากบวม ปุ่มปม หรือเป็นแผล ส่งผลให้ส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินเจริญเติบโตผิดปกติ เช่น แคระแกร็น ต้นโทรม และใบเหลือง ไส้เดือนฝอยโรคพืชจัดเป็นพยาธิตัวกลมชนิดหนึ่งที่ทำลายระบบรากพืช ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืช ซึ่งอาจสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า (พัชรวิภา ใจจักรคำ และคณะ, 2561, น. 1-20)

2.3 โรคเหี่ยว

เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith จัดอยู่ในไฟลัม Proteobacteria ชั้น Betaproteobacteria อันดับ Burkholderiales วงศ์ Burkholderiaceae สกุล *Ralstonia* ชนิด *R. solanacearum* Smith เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในดิน เข้าทำลายพืชชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในเขตร้อน เขตใกล้เส้นศูนย์สูตร และเขตอบอุ่น ได้แก่ มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริกไทย พริกหยวก มะเขือเปราะ ถั่วลิสง ยาสูบ กัญชง และมีการระบาดแพร่ไปในพืชชนิดอื่นๆ กว่า 250 ชนิด เนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ยากต่อการควบคุมหรือทำลาย และเป็นเชื้อสาเหตุของโรคเหี่ยว หรือ Bacterial wilt ซึ่งมีการเรียกโรคในชื่ออื่น ๆ เช่น Brown rot ใช้กับมันฝรั่งในประเทศแถบยุโรป Granville wilt ใช้กับยาสูบ Southern bacterial blight ใช้กับมะเขือเทศ มะเขือเปาะ มะเขือยาว และยาสูบ การเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และการแพร่กระจายหรือการระบาดของโรคเหี่ยว ส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจจนบางครั้งไม่สามารถประเมินมูลค่าความเสียหายได้ และเกิดความสูญเสียทางอ้อมจากการที่สภาพดินไม่มีความเหมาะสมต่อการเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจบางชนิดได้ (Champoiseau, Jones, & Allen, 2009; Stander, Hammes, & Beyers, 2003; Suchoff, Louws, & Gunter, 2019)

2.3.1 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่มีการสร้างสปอร์ ไม่มีเปลือกหุ้ม (Kelman, 1954) ส่งผลให้ไม่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยเจริญเติบโตได้ดีในภาวะที่มีออกซิเจน อุณหภูมิระหว่าง 27-37 องศาเซลเซียส สามารถอยู่ในที่อุณหภูมิสูงสุด 39 องศาเซลเซียส และต่ำสุดระหว่าง

10-15 องศาเซลเซียส (Shekhawat, Chakrabarti, Kishose, Sunaina, & Ashok, 1992) แต่พบมีรายงานที่ขัดแย้งกันกล่าวถึงจำนวน flagella ในเซลล์เดียว ลักษณะและขนาดของเซลล์เชื้อสาเหตุโรคที่พบครั้งแรกเป็นจุดเล็กปลายมน รูปร่างขนาดแตกต่างกันไปตามสภาพการเจริญเติบโต (He, Sequeiar, & Kelman, 1983; Kelman, 1954) การเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ tetrazolium chloride (TZC) โคโลนีมีลักษณะคล้ายครีมีสีขาว มีสีชมพูตรงกลางบาง ๆ (Shekhawat et al., 1992) โดยทั่วไปจุดกลมสีชมพูจะหายไปเห็นเป็นเพียงคล้าย comma หรือรูปพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว และเป็นเชื้อที่มีความผันแปรสูง โดยพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมามากกว่า 200 ยีน สามารถแบ่งตามชนิดพีชอาศัยเป็น 5 races (Buddenhagen, Sequeira, & Kelman, 1962) ดังนี้

Race 1 เข้าทำลายพืชตระกูล Solanaceae ยาสูบ มันฝรั่ง มะเขือเทศ มะเขือยาว และมะเขือชนิดต่างๆ และอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้คืออยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส

Race 2 เข้าทำลายกล้วย และพืชตระกูล และอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้คืออยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส

Race 3 เข้าทำลายมันฝรั่ง มะเขือเทศ และพืชตระกูล Solanaceae อีกหลายชนิด เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ โดยอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 27 องศาเซลเซียส

Race 4 เข้าทำลายพืชตระกูลขิง (*Zingiber officinale*) และอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้คืออยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส

Race 5 เข้าทำลายพืชตระกูลหม่อน อุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้คืออยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส

เมื่อแบ่งเชื้อด้วยไพรเมอร์จำเพาะจากบริเวณ Intergenic spacer region ของยีน 16S-23S rRNA แบ่งออกเป็น 4 phylotype และแบ่งย่อย Sequevar หรือ Sequence variant ได้มากกว่า 20 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Endoglucanase การแบ่งย่อยในแต่ละ Sequevar เป็น Clone line ตามความผันแปรของลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการจัดแบ่งเป็น Biotype จำนวน 11 กลุ่ม จากการทดสอบใช้น้ำตาล 6 ชนิด บางกลุ่มมีความสอดคล้องกับการแบ่งตาม Phylotype ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำมากกว่าวิธีอื่น และสามารถบอกความหลากหลายทางพันธุกรรม มีความสัมพันธ์กับ RFLP typing และยังเชื่อว่าสามารถจะรองรับเชื้อที่มีความแปรผันและใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อ *R. solanacearum* Smith ซึ่งการศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อแต่ละพันธุ์ จะทำให้ได้ข้อมูลการควบคุมและป้องกันเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Lemessa and Zelle (2005) ได้ศึกษาเชื้อ *R. solanacearum* Smith สาเหตุการเกิดโรคเหี่ยวในมันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริกไทย ของประเทศเอธิโอเปีย สามารถจำแนกได้ 62 สายพันธุ์สามารถใช้น้ำตาล 3 ชนิด คือ lactose, maltose และ cellobiose โคโลนีมีลักษณะ fluidal และ irregular จุดศูนย์กลางสีแดงและขอบสีขาวบนอาหาร TZC และโคโลนีมีสีขาวครีม ลักษณะ fluidal และ irregular บนอาหารเลี้ยงเชื้อ asamino acids-pepton-glucose (CPG) โดยสามารถจัดกลุ่ม biovar I จำนวน 19 สายพันธุ์ และ biovar II จำนวน 43 สายพันธุ์

Seleim, Abo-Elyousr, Abd-El-Moneem, and Saeed (2014) ได้เก็บตัวอย่างต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคเหี่ยวในเมือง Minia Assiut และ Sohag ประเทศอียิปต์ โดยเก็บมะเขือเทศพืชที่มีการแสดงอาการของโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่มีอาการใบเหลือง เมื่อตัดลำต้นของพืชที่มีการจมอยู่ในน้ำมีน้ำไหลซึมออกมาเล็กน้อยและพบรอยแยกตามยาว เนื้อเยื่อของท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อนำแบคทีเรียแยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC และมี 15 ไอโซเลตที่แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็น *R. solanacearum* Smith biovar 2 race 1 การทดสอบการก่อโรคพบว่าทำให้มะเขือเทศเป็นโรคได้แตกต่างกันจาก 52 ถึง 97 เปอร์เซ็นต์

ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล, เขาวภา ตันติวานิช, วิภาดา ทองทักษิณ, และสุธามาศ ณ น่าน (2549) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก 4 จังหวัดในภาคเหนือ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 100 ไอโซเลต เพื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Direct Bioassay (Disc Diffusion Method) พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 8 ไอโซเลตที่สามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่ามีจำนวน 5 ไอโซเลตที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้

2.3.2 การแสดงอาการของโรค

เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith จะเข้าทำลายทางบาดแผลหรือรอยแตกที่เกิดจากการแตกของรากแขนง (Root Rupture) ที่อยู่บน Cortex เชื้อสาเหตุโรคที่จะเข้าเซลล์ท่อน้ำ (Xylem) และเจริญเติบโตจนมีปริมาณของเชื้อมากพอที่จะอุดตันท่อน้ำ และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อจนทั่วต้นพืช ส่งผลให้พืชมีอาการขาดน้ำและเหี่ยวตาย การแสดงอาการความแตกต่างกันอยู่บ้างขึ้นกับสภาพแวดล้อมและพืชอาศัย (García, Kerns, & Thiessen, 2019) เช่น

ยาสูบ เมื่อมีการเข้าทำลายในระยะต้นกล้าของเชื้อสาเหตุโรค ใบของต้นยาสูบจะแสดงอาการเหี่ยวก่อน สีใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เกิดรอยไหม้บริเวณขอบใบและเส้นกลางใบ ต้นแคระแกร็น ใบบิดเบี้ยวไม่สมบูรณ์ ต้นเน่าและตายในที่สุด เมื่อนำต้นยาสูบ มาตัดขวาง จะพบว่าเนื้อเยื่อระบบท่อลำเลียงมีสีแดงถึงน้ำตาล ลำต้นกลวง แขนกลางลำต้นเน่าอาจมีรอยแผลปรากฏบนลำต้นยาสูบ รากหลักและรากสาขาอาจกลายเป็นสีน้ำตาลถึงดำ

มะเขือเทศ เมื่อมีการเข้าทำลายในระยะต้นกล้า ใบอ่อนมะเขือเทศจะมีการแสดงอาการก่อน สีของใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีลักษณะเหี่ยวและร่วง ต้นแคระแกร็น มีรากงอกตามลำต้น แต่ในแปลงปลูกไม่ค่อยพบอาการเหี่ยวเฉา เนื้อเยื่อระบบท่อลำเลียงมีสีน้ำตาล และถ้าตัดลำต้นออกตามขวางอาจมองเห็นหยดแบคทีเรียสีขาวหรือเหลือง (European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO], 2004)

มันฝรั่ง เมื่อมีการติดเชื้อโรคเหี่ยวจะมีการแสดงอาการเหี่ยวและปลายใบ มีสีเหลือง (Chlorosis) ต้นอาจจะหยุดการเจริญเติบโต แคระแกร็น และใบอ่อนไม่คลี่ออก ลำต้นที่โผล่เหนือดินมีเส้นสีน้ำตาลเข้มที่เกิดจากเนื้อเยื่อตาย และเนื้อเยื่อของระบบท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเช่นกัน จากนั้นรากจะแห้งตาย ซึ่งอาการเหล่านี้สามารถแสดงในทุกระยะการเจริญเติบโตของต้นมันฝรั่ง และอาการจะแสดงเห็นเร็วขึ้นถ้าใช้ท่อนพันธุ์ที่ติดเชื้อโรคเหี่ยว

จิง เมื่อเริ่มมีการติดเชื้อโรคเหี่ยว ใบล่างจะร่วง แล้วมันฝรั่งเป็นหลอด เปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นทั้งต้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และแห้งตาย บริเวณโคนต้นต่อกับแง มีลักษณะฉ่ำน้ำ ลำต้นเน่าขาดจากแง ไม่มีกลิ่นเหม็น เมื่อตัดท่อลำเลียงจะพบว่ามีสีน้ำตาล และมีสีขาวขุ่นซึมออกมา (ศศิธร จันทรโอทาน, 2525)

กล้วย ใบแก่เหลืองมีสีเหลือง และเหี่ยวแห้ง ท่อลำเลียงมีสีดำหรือสีน้ำตาลเนื้อเยื่อมีลักษณะฉ่ำน้ำ และบางส่วนแห้ง (Davis et al., 2012) ดอกตัวผู้เหี่ยวข้างในขั้วและผลจะเน่าแห้ง เชื้อสาเหตุโรคมีการขยายอย่างรวดเร็ว (Blomme et al., 2017)

ปักษาสวรรค์ (Bird of Paradise) เมื่อพืชได้รับเชื้อสาเหตุโรคจะเริ่มแสดงอาการเหี่ยวที่ใบและลำต้น และแห้งตายในที่สุด โดยพืชจะแสดงของโรคที่รุนแรงสูงภายหลังได้รับเชื้อ 4 สัปดาห์ ท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Rodrigues et al., 2011)

เจอราเนียม (Pelargonium) ใบเริ่มเหี่ยว และเริ่มมีอาการใบสีเหลืองบางส่วน (Chlorosis) ลำต้นอาจดำคล้ำและกลายเป็นเนื้อตายในที่สุด ท่อลำเลียงมักเป็นสีน้ำตาล จากนั้นใบจะกลายเป็นเนื้อตายสีน้ำตาลและแห้งตาย (EPPO, 2004)

คาหลาใบม้วนห่อ และเหี่ยว จากส่วนยอดจนเหี่ยวทั้งกอ สีของใบซีด ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้ง ภายในเวลาไม่กี่วัน ลำต้นเหี่ยวเมื่อผ่าดูลักษณะภายในลำต้นเหี่ยวท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล เหง้าเปื่อย แต่ไม่มีกลิ่นเหม็น

2.3.3 การป้องกัน และกำจัดเชื้อสาเหตุโรค (Choudhary, Nabi, Dar, & Khan, 2018)

2.3.3.1 การจัดการด้านเขตกรรม (Cultural Practices) ต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยพืช เริ่มตั้งแต่กระบวนการเตรียมดิน การปลูก การดูแลรักษา ตลอดจนกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว โดยพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเกษตรกรต้องเตรียมดินด้วยการตากดินเพื่อฆ่าเชื้อโรคด้วยความร้อนและรังสีอุลตราไวโอเลตจากแสงแดดก่อน ต้องมีการจัดการน้ำในแปลงไม่ให้เกิดการขังน้ำนอกพื้นที่เพื่อลดการระบาดของเชื้อสาเหตุโรค ต้องนำพืชหรือชิ้นส่วนพืชและวัชพืชออกนอกแปลงและทำลายทิ้ง เมื่อทำการเพาะปลูกใหม่ ต้องใช้เมล็ดหรือส่วนขยายพันธุ์ที่ปลอดโรค และการปลูกพืชหมุนเวียนเป็นอีกหนึ่งวิธีในการช่วยลดวงจรการระบาดของเชื้อสาเหตุโรค

ธิดิมา วงษ์ชีรี (2543) ได้ทดลองปรับปรุงดินโดยใช้วิธีอบดินแปลงปลูกพืชด้วยสารเคมีพบว่าการใช้ยูเรีย 50 กก.ต่อไร่ ปุ๋ยคอกมูลไก่ 2,000 กก.ต่อไร่ และการใช้ยูเรียร่วมกับปูนขาว อัตรา 1:1 ส่งผลให้การตายของต้นพืชจากโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ลดลงและมีผลผลิตเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับงานทดลองของสุรชาติ คูอาริยะกุล, ปฏิพัทธ์ ใจปิ่น, วัชรพล บำเพ็ญอยู่, วิมล แก้วสิดา, และสุรามาศ ณ น่าน (2557) ดำเนินการทดลองอบดินแปลงปลูกพืชด้วยแสงอาทิตย์เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยว พบว่าการอบดินมีผลทำให้อุณหภูมิดินสูงขึ้นอยู่ในช่วง 38.1-61.1°C และในช่วง 49.2-61.1°C ร่วมกับการรมดินโดยวิธีชีวภาพ สามารถกำจัดโรคเหี่ยวในแปลงปลูกพืช อยู่ในระดับเดียวกับกรรมวิธีการอบดินด้วยแสงอาทิตย์ และการรมดิน

อัญชัน ไตรธิเลน, อมรรัตน์ อุปพงศ์, และสุพุมภรณ์ ศรีเผด็จ (2558) ได้ศึกษาควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ของมะเขือเทศ โดยวิธีการเสียบยอดแบบต่อเข้าเคียว ซึ่งปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช ที่มีความเข้มข้น 2.7×10^6 cfu./มล. ด้วยวิธีสับราก (Root Inoculation Technique) พบว่ามะเขือเทศขึ้นเกิดโรคระดับ 1.5 ที่ปริมาตร 20 มล. มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์เกิดโรคระดับ 3 ที่ปริมาตร 10 มล. ต้นต่อมะเขือเทศงอกเกิดโรคระดับ 1.25 ที่ปริมาตร 30 มล. ส่วนต้นต่อมะเขือเทศ

เกิดโรคระดับ 2.5 ที่ปริมาตร 20 มล. ดังนั้น มะเขือพวงสามารถเป็นต้นตอของมะเขือเทศสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้

2.3.3.2 การปลูกพืชพันธุ์ต้านทาน (Plant Resistance) ปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์พืชที่สามารถต้านทานการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ซึ่งมีพืชบางสายพันธุ์สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ เช่น สายพันธุ์มันฝรั่งพบว่าสายพันธุ์ Bellini Spunta และ Mondial Recorded สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 9.64, 15.41 และ 34.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Khairy, Tohamy, Zayed, & Ali, 2021)

Kim et al. (2016) ได้ทดสอบมะเขือเทศ 285 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะเรือนกระจก เพื่อคัดเลือกพันธุ์มะเขือเทศที่มีความต้านทานทางพันธุกรรมโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีมะเขือเทศ 279 สายพันธุ์มีความไวต่อเชื้อ *R. solanacearum* Smith ส่งผลให้เกิดอาการเหี่ยวและตาย 70-90 เปอร์เซ็นต์ และมีมะเขือเทศ 4 สายพันธุ์เท่านั้นที่มีความต้านทานโรคเหี่ยว ซึ่งสามารถนำสายพันธุ์ดังกล่าวไปต่อยอดในโครงการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศที่มีต้านทานโรคเหี่ยวต่อไป

2.3.3.3 การควบคุมโรคโดยชีววิธี (Biological Control) การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมประชากร การหยุดยั้งกิจกรรม หรือกระบวนการทำลายพืชของเชื้อสาเหตุโรคกำลังได้รับความนิยมนักศึกษาควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในมะเขือเทศและมันฝรั่งด้วย *Pseudomonas fluorescence*, *B. subtilis* และ *B. amyloliquefacience* พบว่าสามารถควบคุมการโรคได้ดี (Chen et al., 2012; Ciampi-Panno et al., 1989; Singh, Yadav, Sinha, & Upadhyay, 2012)

พรนิภา ถาโน และอังสนา อัครพิศาล (2561) ได้ทดสอบการใช้เชื้อปฏิปักษ์ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน เช่น การใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คลุกหัวพืชมาก่อนลงปลูก และละลายราดชีวภัณฑ์หลังจากปลูกเชื้อ *R. solanacearum* Smith 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันและกำจัดโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ผลของการทดสอบ คือ สามารถลดความรุนแรงของโรค 100 เปอร์เซ็นต์ และลดการเกิดโรค 61.54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการเกิดโรค

2.3.3.4 การกักกัน (Quarantine) การใช้กฎหมายหรือกฎระเบียบเพื่อควบคุมการระบาดของโรคเหี่ยว รวมถึงหลีกเลี่ยงการแพร่กระจายของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในพื้นที่ที่มีแมลงพาหะ มีมาตรการป้องกันนำเมล็ดพันธุ์ หรือท่อนพันธุ์พืชที่ติดเชื้อโรคเหี่ยวเข้าภูมิภาคหรือประเทศที่ยังไม่มีการระบาดของโรค

2.3.3.5 การควบคุมโดยสารเคมี (Chemical Control) เป็นตัวเลือกสุดท้ายในการควบคุมโรคเหี่ยว เพราะสารเคมีที่นำมาใช้ค่อนข้างน้อย ไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ และต้องใช้ในปริมาณมาก ทำให้ต้องลงทุนค่อนข้างสูง สารเคมีที่นำมาทดลองใช้ได้แก่ โซเดียมหรือแคลเซียมคลอ

โรออกไซด์ (Na or CaClO) คลอรีนไดออกไซด์ (ClO₂) สารต้านอนุมูลอิสระ กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก นอกจากนี้การใช้สารสกัดสมุนไพรยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เช่น Rangel-Montoya, Delgado-Ramírez, Sepulveda, and Hernández-Martínez (2019) ได้ทดสอบใช้สมุนไพรสกัดเพื่อยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในพริกชี้หนู โดยสารสกัดจากยูคาลิปตัส และละหุ่ง มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ได้ดีที่สุด และใบสาบเสือใบแก่ ใบอ่อน และใบผสม ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 105 มิลลิกรัมต่อลิตร ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในพริกชี้หนู 4.0, 3.2 และ 3.0 มิลลิเมตรตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Paper Disc Diffusion บนอาหาร TZC (สุพัฒนา จันทา และนฤมล พินเนียม ชนะไพฑูรย์, 2561)

สุนิตรา คามีสักดิ์ (2559) ได้ทดสอบการใช้น้ำหมักชีวภาพ สูตรกุ่ม หอย อัตร่า 60 มิลลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำการฉีดพ่นทุก ๆ เดือน เพื่อควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวของไพลให้ประสิทธิภาพดีที่สุด วิธีที่ได้ผลรองลงมา คือ การพ่นไคโดซาน 1 เปอร์เซ็นต์ ในอัตร่า 60 มิลลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรทุก ๆ เดือน พบว่าอัตราการเกิดโรคเหี่ยวที่เหง้าของไพลอยู่ในระดับต่ำทำให้ได้ผลผลิตเฉลี่ยมีน้ำหนักมากกว่า 2.3 ตันต่อไร่

Paret, Cabos, Kratky, and Alvarez (2010) ได้ทดสอบนำน้ำมันหอมระเหยจาก Palmarosa (*Cymbopogon martini*), ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) และยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus*) ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith race 4 ในพริก (*Zingiber officinale*) ที่ปลูกในภาชนะ โดยใช้ น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้น 0.04, 0.07 และ 0.14 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการปลูกพริกในวัสดุปลูกที่ผ่านการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหยมีอัตราการเกิดโรคเหี่ยวลดลง นอกจากนี้การจัดการดินก่อนการปลูกมีส่วนสำคัญในการลดการระบาดของเชื้อ *R. solanacearum* Smith โดยณัฐพงษ์ แกมทับทิม และศิริชัย เทพา (2562) ได้ทดสอบเพิ่มอุณหภูมิดินให้สูงขึ้น มีการปล่อยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสลงสู่ชั้นดินที่มีความลึก 40 เซนติเมตร ระยะห่าง 5 และ 10 เซนติเมตร นาน 240 นาที ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith

ปัจจุบันไม่มีวิธีที่ดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว โดยวิธีที่ได้รับความสนใจและนิยมนำไปปฏิบัติใช้ คือ การควบคุมโรคเหี่ยวด้วยชีววิธี (Biological Control) และการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เพราะประหยัดค่าใช้จ่าย และปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค ทั้งนี้ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดจึงจำเป็นต้องใช้วิธีผสมผสาน (Integrated Disease Management (IDM)) โดยเป็นการนำทุกวิธีการของการควบคุมโรคมาผสมผสานเพื่อควบคุมโรคพืช และลดความรุนแรงของการเกิดโรค

2.4 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เป็นเชื้อที่สามารถครอบครองพื้นที่ แข่งแย่งแหล่งอาหารผลิตสารไปฆ่าหรือยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ผลิตสารเพื่อยับยั้งสารของเชื้อจุลินทรีย์ในการเกิดโรคให้มีความรุนแรงลดลง ตลอดจนชักนำให้เกิดความต้านทานโรคในพืช Beneduzi, Ambrosini, and Passaglia (2012) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* และ *Bacillus* บางชนิดที่อาศัยอยู่รอบ ๆ รากพืช (Rhizosphere) มีการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไส้เดือนฝอย และโปรโตซัว ที่อาศัยอยู่ในดิน มีการชักนำพืชให้สร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ ปัจจุบันมีการศึกษานำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์มากขึ้น ญัฐิมา โหมิตเจริญกุล, บุรณี พัววงษ์แพทย, ทิพวรรณ กันหาญาติ, และรุ่งนภา ทองเครื่อง (2557) ได้พัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ซึ่งสามารถควบคุมการระบาดในแปลงทดลองโรคเหี่ยวของขิงได้ 62-65 เปอร์เซ็นต์

2.4.1 กลไกการควบคุมโรค

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถสร้างกลไกการควบคุมโรคพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งมี 4 ลักษณะ ดังนี้

2.4.1.1 การแข่งขัน (Competition) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้แก่ การแข่งขันใช้ธาตุอาหาร เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* มีการผลิตสารไซเคอร์โรฟอร์เพื่อจับธาตุเหล็กในธรรมชาติได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค การแข่งขันครอบครองพื้นที่ทำให้เชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญเติบโต หรืออาศัยในบริเวณที่มีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ ปิณฑนา ฐาปนพงษ์วรกุล, วชิรญาณ ควงดီး, มณีกัร ตรีกตรารบุรี, และสมบัติ ศรีชูวงศ์ (2564) ศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. CT20 พบว่ามีการสร้างสารระเหยเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยและลดการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* Coll-1 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ

2.4.1.2 การทำลายชีวิต (Antibiosis) แบคทีเรียสร้างสารหรือมีการหลั่งสารปฏิชีวนะ (Antibiotics) ออกมาเพื่อยับยั้ง หรือทำลายเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งการควบคุมโรคพืชจาก

แบคทีเรียโดยชีววิธีที่สำเร็จเป็นครั้งแรก คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ K84 ภายหลังตั้งชื่อ Agrocin 84 มีการผลิตสารปฏิชีวนะ Bacteriocin เพื่อยับยั้งหรือทำลาย เชื้อ *A. tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุของโรคปุ่มปม (Crown Gall) เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CH₄ มีการสร้างสารปฏิชีวนะบริเวณรากและผิวรากของพืช เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโต เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (ประจวบ บุตรศาสตร์, นิพนธ์ ทวีชัย, ชวลิต สงประยูร, และวิชัย โภษิตรัตน์, 2548) เชื้อแบคทีเรีย *Ps. Fluorescens* สายพันธุ์ 2-79 ผลิตสารปฏิชีวนะ phasing-1-carboxylate สามารถยับยั้งการเกิดโรค Take-All ตั้งแต่ 50-90 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสาลี (Cook et al., 1995)

2.4.1.3 การเป็นปรสิต (Parasitism) เชื้อแบคทีเรียที่เข้าไปอาศัย เจริญเติบโตและทำลายเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ เชื้อ *Erwinia uredin* เข้าทำลาย Pedicel (ส่วนก้าน) ของเชื้อราสนิม *Bdellovibrio bacteriovorus* เป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *Ps. syringae* pv. *Glycinea* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง เชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* (Syn. *Bacillus penetrans*) เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย สายพันธุ์ *Meloidogyne incognita* สาเหตุของโรครากปม (Cook and Baker, 1983)

2.4.1.4 การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induced Disease Resistance) การนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เคยเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชมาชักนำให้เกิดความเสียหาย ลดความสามารถในการก่อโรค เพื่อกระตุ้นให้พืชมีการสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ เช่น การกลายพันธุ์ในยีนเดี่ยวของเชื้อรา *Colletotrichum magna* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชตระกูลแตง (Cucurbit) เชื้อจะเจริญอยู่ในพืชแต่ไม่ทำให้เกิดโรค ช่วยให้มีภูมิคุ้มกันพืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคเดิมได้ เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สายพันธุ์ไม่รุนแรง (Avirulent) ที่มีชีวิตอยู่สามารถชักนำให้พืชสร้างสาร Tomatin ปลดปล่อยบริเวณรากมะเขือเทศ ทำให้เกิดความต้านทานของการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* Smith สายพันธุ์เดิม (Arwiyanto, Sqkata, Goto, Tsuyumu, & Takikawa, 1994) นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดกระตุ้นกระบวนการรับรู้ จดจำและตอบสนองให้พืชเกิดกระบวนการป้องกันตนเอง และนำระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ใช้ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคได้หลายชนิด

2.4.2 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกัน ควบคุม และกำจัดศัตรูพืช

การป้องกัน ควบคุม และกำจัดศัตรูพืช ล้วนมีความสำคัญสำหรับการเพาะปลูกพืช เพื่อลดความเสียหายด้านผลผลิตให้แก่เกษตรกร ซึ่งอาจเกิดขึ้นตั้งแต่กระบวนการก่อนการเพาะปลูก ระหว่างการเพาะปลูกไปจนถึงกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต การควบคุมโรคพืช

สามารถทำได้หลายวิธี แต่เกษตรกรมักเลือกใช้สารเคมี เนื่องจากมีความสะดวกและได้ผลที่รวดเร็ว แต่มักประสบปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อสาเหตุโรคและศัตรูพืชอื่นๆ การตกค้างของสารเคมีในผลิตผล และสิ่งแวดล้อม รวมถึงอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภคด้วย ปัจจุบันมีการวิจัยหาวิธีใหม่ ๆ ในการควบคุมโรคพืช เพื่อลดการใช้และอันตรายจากสารเคมีทางการเกษตร มีการแนะนำให้เกษตรกรเปลี่ยนมาควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol) ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับว่าได้ผลดี มีการศึกษาทั่วโลก และระบบการควบคุมโรคและศัตรูพืช โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เป็นเพื่อป้องกัน ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยการแย่งแย่งอาหาร การยับยั้ง และการเป็นปรสิตต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช งานวิจัยด้านการควบคุมโรคโดยวิธีชีวภาพมักจะเน้นศึกษาการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่ทำลายส่วนที่อยู่ใต้ดินของพืชมากกว่าการเข้าทำลายส่วนประกอบของพืชที่อยู่เหนือดิน ปัจจุบันวิธีนี้เป็นที่ยอมรับว่าประสบความสำเร็จสูงในการป้องกันกำจัดโรคพืช จนถึงมีการผลิตเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับการค้า ซึ่งนิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวรากของพืช (Rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (Phylloplane) โดยมีวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคมีความแตกต่างกัน ดังนี้

2.4.2.1 รากและลำต้นใต้ดิน การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคบริเวณดังกล่าวได้หลายวิธี ตามความสะดวกของผู้ใช้ ซึ่งให้ผลลัพธ์แตกต่างกันตามปัจจัยอื่น ๆ ประกอบ เช่น คุณสมบัติของพืชที่เป็นโรค ปริมาณและระยะเวลาการใช้ โดยลักษณะของการใช้ผลิตภัณฑ์มีหลายรูปแบบ ได้แก่

(1) การคลุกเมล็ด คลุกเมล็ดก่อนการเพาะปลูก ขนาดของเมล็ดไม่ควรใหญ่เกินไปทำให้ยากต่อการคลุก และประหยัดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

(2) การราดดิน แม้เป็นวิธีที่ง่ายและมีการนำไปปฏิบัติกันมาก แต่ยังมีข้อจำกัดเรื่องความไม่สะดวกของการนำไปใช้ในสภาพแปลงที่ปลูกพืชปริมาณมาก และมีน้ำไม่เพียงพอ

(3) การคลุกดิน เป็นการนำเอาผง หรือสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์คลุกเคล้าผสมในดินให้ทั่วพื้นที่ก่อนปลูกพืช

(4) การจุ่มราก ใช้กับพืชที่ต้องเพาะเมล็ดก่อนการย้ายกล้าปลูก เช่น พริก มะเขือเทศ หรือเมล็ดพันธุ์มีราคาแพง ก่อนจุ่มต้องทำให้ดินหรือวัสดุเพาะบริเวณรากหลุดออกให้หมด แล้วนำรากไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้น 10^8 CFU/ml ก่อนปลูกในแปลง วิธีนี้สามารถควบคุมโรคได้ดี เพราะรากพืชมีการสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ครบทุกส่วน

(5) การแช่ เป็นการป้องกันและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืชต่าง ๆ ที่ติดมากับเมล็ดพืชเป็นการกระตุ้นการงอกให้ต้นกล้าออกสม่ำเสมอและมีระบบรากที่ดี

2.4.2.2 ส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน มีวิธีใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่นิยม 2 วิธี คือ

(1) วิธีการทา ส่วนใหญ่ใช้กับพืชยืนต้น และมีรอยแผลปรากฏให้เห็นชัดเจน บนส่วนของต้น หรือกิ่งเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควรมีความเข้มข้น และมีความเหนียว เมื่อทาบริเวณดังกล่าวจะทำให้ยึดติดกับผิวพืชได้ทนทาน

(2) วิธีการพ่น ใช้กับการปลูกพืชที่มีปริมาณ และพื้นที่มาก หรือพืชที่มีขนาดลำต้นสูงใหญ่ โดยหลักปฏิบัติใช้วิธีการเดียวกันกับการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช (อรุณวงศ์จริญญ์, สุวภา สาวิกาก, และชนัญญาญจน์ แสงประสาน, 2563)

2.5 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

แบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเข้าไปแย่งแย่ง แย่งชิง ทำลาย และหรือเป็นปรสิตต่อเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคชนิดอื่นได้ ปัจจุบันนิยมนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กลุ่ม *Bacillus* spp. มาป้องกัน ควบคุม และกำจัดโรคพืช เนื่องจากเป็นเชื้อที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างเอนโดสปอร์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สารเคมี รังสี และความร้อนที่สูงมากได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper, Ryu, & Zhang, 2004; Steen, 2013) และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) เช่น กลุ่ม Iturins มีลักษณะโครงสร้างเป็น Amphiphilic Peptide Ring ประกอบด้วยกรดอะมิโน 7 ตัว (Gong et al., 2006) สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ได้แก่ Iturin, Bacillomycin, Mixmirin และ Mycosubtilin ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา และยีสต์เป็นส่วนใหญ่ โดยส่งผลต่อการงอกของสปอร์ หรือการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคกลุ่ม Surfactin ที่มีกรดอะมิโน 7 ตัว คือ L-Glu, L-Leu, D-Leu, L-Val, L-Asp, D-Leu, และ L-Leu โดยกรดอะมิโนตัวที่ 7 อาจมีการยึดจับด้วยหมู่คาร์บอกซิล และไฮดรอกซิลของกรดไขมันช่วยลดแรงตึงผิว แย่งชิงแบคทีเรียแกรมลบ ไวรัส และไฟโตพลาสมา และกลุ่ม Zwittermicin A เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *B. cereus* และ *B. thuringiensis* โครงสร้างทั่วไปประกอบด้วย Peptide และ Polyketide Antibiotics มีหมู่ hydroxyl อยู่บนสายคาร์บอนซึ่งคล้ายกับโครงสร้างบางส่วนของ Polyketide โดยในไตรเจนตรงส่วนปลายของ Zwittermicin A เป็นส่วนที่ได้มาจากกรดอะมิโน Citrulline มีลักษณะคล้ายกับ Peptide Antibiotic สารปฏิชีวนะ Zwittermicin A ที่สร้างขึ้นสามารถยับยั้งได้ทั้งยูคาริโอตและโพรคาริโอตที่ก่อโรคพืชหลายชนิด (จันทรา อุปาลี และอรอุมา เรืองวงษ์, 2561; Silo-Suh, Stabb, Raffel, & Handelsman, 1998) โดยสารปฏิชีวนะมีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Botryodiplodia* sp. (โรคผลเน่าของลำไย), *Sphaerotheca fuliginea* (โรคราแป้งของ

แดงขาว), *Pythium* spp. (โรคริโคนเน่า), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (โรคเหี่ยวของพืชตระกูลพริกและมะเขือเทศ), *Sclerotium rolfsii* (โรคริโคนเน่า), *C. gloeosporioides* (โรคแอนแทรคโนส), *Didymella bryoniae* (โรคต้นแตกยางไหลของพืชตระกูลแตง), *R. solanacearum* Smith (โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ) *Macrophomina phaseolina* (โรคเน่าดำของถั่วเหลือง ถั่วเขียวและงา), *F. oxysporum* f. sp. *lentil* (โรคเหี่ยวของถั่วแขก)

2.5.1 เชื้อแบคทีเรียปฏิบัณฑ์ที่สำคัญ

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. จัดอยู่ใน Domain : Bacteria Division : Firmicutes Class : Bacilli Order : Bacillales Family : Bacillaceae Genus: *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-Positive) มีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาสูง รูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว ทรงกระบอก (Rod Shape) หรือต่อกันเป็นสาย มีขนาดประมาณ 0.5-2.5 x 1.2-10 ไมโครเมตร หรือ 0.3-2.2 x 0.7-1.2 ไมโครเมตร (ดวงพร คันธโชติ, 2537) ลักษณะโคโลนีมีความแปรปรวนมากขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ คุณภาพและปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรีย *Bacillus* spp. เจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด ที่อุณหภูมิปกติและ pH เป็นกลาง ส่วนใหญ่เจริญเติบโตบนอาหาร Nutrient Agar (NA) มีลักษณะโคโลนีที่แผ่เป็นแผ่นบางๆ โคโลนีกลม หรือรูปร่างไม่แน่นอน เป็นประกาย หรือด้านทึบ ผิวเรียบหรือผิวขรุขระ ขอบเรียบหรือรั้วหยัก โคโลนีมีสีขาว สีครีม สีน้ำตาล บางครั้งอาจพบสีแดง สีส้ม หรือสีดำ อายุโคโลนี ต้องการออกซิเจนในการหายใจ บางครั้งสามารถเจริญได้ในที่ที่ไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe) เซลล์มีการสร้างสปอร์ (Endospore Forming) 1 เซลล์ต่อ 1 สปอร์ รูปร่างของสปอร์มีความหลากหลาย ได้แก่ รูปกลม (Round) รูปไข่ (Oval) หรือเป็นแท่ง (Cylindrical) ตำแหน่งของสปอร์ตรงกลางก่อนไปทางปลายเซลล์ ทำให้เซลล์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Nicholson, 2002; Siala, Hill, & Gray, 1974; Vries, 2006) เช่น สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสนานกว่า 20 ชั่วโมง และทนต่อสภาพแห้งแล้ง สารเคมี รังสีได้ สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด โคติเนส (Chitinase) ไคโตซานเนส (Chitosanase) ไลเปส (Lipase) ลามินาลิเนส (Laminarinase) และโปรติเอส (Proteinase) และเคลื่อนที่ได้ด้วย Peritrichous Flagella และสร้างสารปฏิชีวนะได้ เช่น *B. licheniformis* ผลิตสาร Bacitracin *B. polymyxa* ผลิตสาร Polymyxin *B. brevis* ผลิตสาร Gramicidin และ Tyrocidine และ *B. subtilis* ผลิตสาร Subtilin และ Bacilycin เมื่อศึกษาลำดับ DNA base (DNA sequence) ในแบคทีเรียสกุล *Bacillus* มีความแตกต่างกันอย่างมากมีเปอร์เซ็นต์ G+C content มีความแปรปรวนตั้งแต่ 33 เปอร์เซ็นต์ใน *B. anthracis* จนถึง 69 เปอร์เซ็นต์ในแบคทีเรีย *B.*

thermocatenulatus ตามปกติความแปรปรวนของลักษณะภายในสกุลไม่ควรเกิน 15 เปอร์เซ็นต์ (Rosovitz, Voskuil, & Chambliss, 1998, pp. 709-729) ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และในทุกสภาพแวดล้อม เพราะแบคทีเรียที่มีการสร้างสปอร์ส่งผลให้เซลล์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยเฉพาะในดินบริเวณไรโซเฟียร์สามารถพบเชื้อ *Bacillus* spp. หลากหลายสายพันธุ์เป็นจำนวนมาก (Cheneby, Philippot, Hartmann, He'nault, & Germon, 2000; Kent & Triplett, 2002; Nair & Raja, 2018; Saxena, Kumar, Chakdar, Anuroopa, & Bagyaraj, 2019; Vasudevan, Siddarthan, & Ramatchandirane, 2015; Ying, Hu, Zhou, Zhang, & Li, 2020)

2.5.2 การนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.5.2.1 การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชจากเชื้อแบคทีเรีย

อนุสร จันทรแสง และสุพจน์ กาเข็ม (2561) ได้ศึกษาการแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากข้าวจากแปลงนาในพื้นที่จังหวัดปทุมธานี สุพรรณบุรี และอยุธยา และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* N 55314 และ *Serratia* sp. N43203 ที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยเชื้อ *B. cereus* N 55314 และ *Serratia* sp. N43203 มีความสามารถในการป้องกันและลดการเกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ 67.47 และ 46.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน แต่การใช้สารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ลดการเกิดโรคได้เพียง 8.74 เปอร์เซ็นต์

Salem and Abd El-Shafea (2018) ได้ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc1 และ Ecc2) เชื้อสาเหตุโรคเน่าและของมันฝรั่งในหลอดทดลองโดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescence*, *P. aeruginosa* และ *Streptomyces* spp. พบว่า *Streptomyces* spp. สามารถเกิดการยับยั้งต่อ Ecc1 และ Ecc2 ได้สูงสุด มีโซนการยับยั้งคือ 37 และ 40 มม. ตามลำดับ ตามด้วย *P. fluorescence*, *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ซึ่งมีโซนการยับยั้ง 32, 28 และ 24 มม. ตามลำดับ เมื่อทดสอบในกระถาง *Streptomyces* spp. แสดงจำนวนหัวที่ติดเชื้อมีน้อยที่สุด รองลงมาคือ *P. fluorescence*, *B. subtilis* และ *P. aeruginosa*

Prameela and Bhai (2019) ศึกษาแบคทีเรียปฏิปักษ์โรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรค *R. pseudosolanacearum* race 4 ได้จำนวน 150 ชนิด และคัดเลือก 6 ไอโซเลต ที่สามารถการควบคุมทางชีวภาพและส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ลักษณะโมเลกุลโดยการจัดลำดับยีน 16S rDNA ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* (IISRGAB 5), เชื้อแบคทีเรีย *B. marisflavi* (IISRGAB 43), เชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* (IISRGAB 107), *Agrobacterium tumefaciens*

(IISRGAB24), *Micrococcus luteus* (IISRGAB 48) และ *Staphylococcus haemolyticus* (IISRGAB) เมื่อทดสอบการควบคุมโรคโดยการเพาะเมล็ดและการรดดินด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในโรงเรือน พบว่าสายพันธุ์ *B. licheniformis* GAP107-MTCC 12725 สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยว 67 เปอร์เซ็นต์ Zhang et al. (2018) ได้แยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณไรโซสเฟียร์แปลงปลูกจึง สามารถแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith จำนวน 3 ไอโซเลต คือ N10, SJN3 และ SJN5 และเมื่อนำไปวิเคราะห์ลักษณะโมเลกุล โดยการลำดับ 16S rDNA พบว่าอยู่ในสกุล *Pantoea*, *Burkholderia* และ *Arthrobacter* ตามลำดับ

Kwon and Kim (2014) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* JW-1 จากดินบริเวณไรโซสเฟียร์ของแปลงปลูกพริกไทย เพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith โดยทดลองแช่เมล็ดพริกไทย และมะเขือเทศก่อนปลูกและราดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* JW-1 พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมีปริมาณลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการควบคุมที่ไม่ผ่านการบำบัดภายใต้โรงเรือน

2.5.2.2 การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชจากเชื้อรา

Suryanto, Yeldi, and Munir (2016) ได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของแบคทีเรีย *เอนโดไฟต์* ที่แยกจากรากของคาหลา (*Etlingera elictor* (Jack.) RM Smith) โดยการทดสอบความต้านทานโรคที่มีเชื้อราเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Rigidoporus microporus* และ *Culvularia* sp. และเชื้อราสาเหตุโรคในปลา เช่น *Saprolegnia* sp. โดยใช้วิธีแพร่ของสารบนกระดาษแผ่นกลม (Paper Disc Diffusion) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สามารถแยกแบคทีเรียที่เป็นแกรมลบ 7 ไอโซเลต และแกรมบวก 4 ไอโซเลต มีการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา 3 ไอโซเลต IAK3 IAK9 และ IAK11 เมื่อนำมาศึกษาเพิ่มเติมพบว่า สารสกัด Ethylacetate ของไอโซเลต IAK9 สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* สารสกัด n-hexane ของ IAK11 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้มากกว่าเชื้อ *R. microporus*

Kejela, Thakkar, and Thakor (2016) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณไรโซสเฟียร์รากของกาแฟ (*Coffea arabica* L.) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค *Colletotrichum gloeosporioides* และ *F. oxysporum* สามารถแยก *Bacillus* ได้ทั้งหมด 42 สปีชีส์ โดยไอโซเลตเชื้อ BT42 แสดงการยับยั้งการเจริญของไมซีเลียลแนวรัศมีสูงสุดต่อเชื้อ *C. gloeosporioides* (78%) และ *F. oxysporum* (86%) BT42 สามารถลดการติดเชื้อของโรคจากการติดเชื้อ *C. gloeosporioides* เป็น 2.77 เปอร์เซ็นต์ และจากการติดเชื้อ *F. oxysporum* เป็น 0 ($p < 0.001$) BT 42 ที่แยกได้แสดงลักษณะที่ส่งเสริมการเติบโตหลายประการ และมีลักษณะคล้ายคลึงกับ *B. amyloliquefaciens* สูงสุด

Ashwini and Srividya (2014) ได้ศึกษา *B. subtilis* ซึ่งแยกได้จากดินบริเวณไรโซสเฟียร์ของพริก เมื่อทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ต่อ *C. gloeosporioides* OGC1 ด้วยวิธี Filter Paper Disk Method มีการยับยั้ง 0.5-1 ซม. โดยสายพันธุ์ *B. subtilis* ยับยั้ง *C. gloeosporioides* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ในแง่ของน้ำหนักแห้ง เมื่อทดสอบเคลือบเมล็ดพริกด้วยเชื้อ *Bacillus* sp. ก่อนการเพาะพบว่ามียอัตราการเกิดโรคลดลง 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ไม่ได้เคลือบ

ปิยรัตน์ นามเสนา (2561) เก็บตัวอย่างดินในป่าชุมชน ตำบลหนองปลิง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม เพื่อนำไปศึกษาแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูงได้ทั้งหมด 81 ไอโซเลต จากตัวอย่างดิน 12 ตัวอย่าง โดยเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน มีการสร้างเอนโดสปอร์ มีขนาดเซลล์ในช่วง 2.20-3.60 x 5.40-12.40 ไมโครเมตร สามารถผลิตเอนไซม์โคตินเนสเบื้องต้นได้จำนวน 32 ไอโซเลต แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต RMU-SWL27 และ RMU-NK03 สามารถผลิตเอนไซม์โคตินเนสได้ 47.34 และ 50.66 หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับ คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลต ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สูงมาทำการศึกษการยับยั้งเชื้อรา และจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียพบว่า มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *C. gloeosporioides* และ *A. brassicicola* โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต RMU-SWL27 และ RMU-NK03 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้สูงสุด และแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลต RMU-NK03 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้สูงสุดเมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี API 50 CHE และจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลต อยู่ในสกุล *Bacillus* โดยไอโซเลต RMU-SWL27 และ RMU-NK03 เป็นแบคทีเรีย *B. thuringiensis* IARI-IIWP-38 และ *B. thuringiensis* MSP51 มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงเท่ากับ 99 และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Cochran, Steger, Holland, and Rupe (2021) ได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียบริเวณไรโซสเฟียร์ของข้าวฟ่างที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา โดยมีไอโซเลต UM96 มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค *Diaporthe phaseolorum*, *C. acutatum*, *Rhizoctonia solani* และ *F. oxysporum* เมื่อนำไปวิเคราะห์ลักษณะโมเลกุลโดยการจัดลำดับ 16S rDNA พบว่า ไอโซเลต UM 96 น่าจะอยู่ในกลุ่ม *B. amyloliquefaciens* อย่างไรก็ตามการจับคู่เอกลักษณ์สูงสุดที่พบในฐานข้อมูลของสายพันธุ์ *Bacillus* คือ 91 เปอร์เซ็นต์ สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่า *Bacillus* sp UM 96 อาจเป็นสายพันธุ์ใหม่

Basha and Ulaganathan (2002) แบคทีเรียในดิน *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BC121 ที่แยกได้จากส่วนไรโซสเฟียร์ของข้าวฟ่าง มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Curvularia lunata* สูง ทดสอบด้วย Dual Culture Bioassay สังเกตโซนการยับยั้งที่ชัดเจนที่ 0.5-1 ซม. หลังการทดสอบ 10 วัน สายพันธุ์

ของแบคทีเรียจะเติบโตบนผิวของเชื้อราและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมาก สอดคล้องกับงานทดลองของ Sowanpreecha, Kanchanabanca, Sangvanich, and Rerngsamran (2018) ได้ทดลองนำ *B. subtilis* N3 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. lunata* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดสนิมในกล้วยไม้ และ Santoso et al. (2022) ได้ทดสอบศักยภาพเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* LDR พบว่ามีความสามารถควบคุมเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค คือ เชื้อรา *C. lunata* BM และ *Ganoderma* sp. TB4 เช่นเดียวกับ Martinez-Absalon et al. (2012) ได้ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราในไรโซสเฟียร์ของข้าวฟ่าง โดยสามารถคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท UM 96 ซึ่งยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค *Diaporthe phaseolorum*, *C. acutatum*, *Rhizoctonia solani* และ *F. oxysporum* เมื่อวิเคราะห์ลักษณะโมเลกุลโดยการจัดลำดับ 16S rDNA บางส่วนแยก UM 96 ในกลุ่ม ที่มี *B. amyloliquefaciens* อย่างไรก็ตาม การจับคู่เอกลักษณ์สูงสุดที่พบในฐานข้อมูลของสายพันธุ์ *Bacillus* คือ 91 เปอร์เซ็นต์ สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่า *Bacillus* sp. UM 96 อาจเป็นสายพันธุ์ใหม่

สุภัก มหัทธนพรรค (2558) มีการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่แยกจากดินในพื้นที่จังหวัดพะเยา จำนวน 3 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. acutatum* ได้ดี วิธี Dual Culture เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อ *Colletotrichum* spp. และเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก เมื่อนำไประบุสายพันธุ์เชื้อโดยการทดสอบทางชีวเคมี และการบ่งบอกสายพันธุ์ในระดับ DNA พบว่าสายพันธุ์ BA2, BS2 และ BL2 มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดสามารถลดการเกิดโรคในต้นพริกได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ได้รับเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (75.00%) ภายได้สภาพโรงเรือน

Singh, Pandey, Dubey, and Maheshwari (2008) ศึกษาการใช้ชีววิธีควบคุมเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรครากเน่าของต้นสนอินเดีย *Pinus roxburghii* (Sarg.) ซึ่งแยกเชื้อปฏิปักษ์จากบริเวณไรโซสเฟียร์ของรากต้นสนอินเดีย สามารถแยกเชื้อ *B. subtilis* BN1 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อราสาเหตุโรค และเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากและหน่อตามลำดับ เมื่อเทียบกับการควบคุม 43.6 และ 93.54 เปอร์เซ็นต์ และ Rangel-Montoya et al. (2022) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. amyloliquefaciens* พบว่าสามารถควบคุมเชื้อ *M. phaseolina* ในถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata* L.)

พรศิลป์ สีเผือก, ชัยสิทธิ์ ปรีชา, และวุฒิชัย สีเผือก (2561) ได้แยกเชื้อราในแปลงนาข้าว และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อศึกษาควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธีและความหลากหลายของเชื้อรา พบทั้งหมด 39 สปีชีส์ 24 จินัส แบ่งเป็นเชื้อรา 4 สปีชีส์ได้แก่ *Bipolaris oryzae*, *C. lunata*, *F. solani* และ *Nigrospora oryzae* และแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 18 ไอโซเลท โดยมี

3 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. lunata* และเมื่อจำแนกสปีชีส์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าเชื้อ *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli* และ *Burkholderia* sp. เช่นเดียวกับอารยา บุญศักดิ์, สุภารัตน์ สดุดพันธ์, วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ, และคณิตา เกตุสุข (2564) ได้แยกจากตัวอย่างดินนาที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ตำบลพรหมพิราม และตำบลท่าช้าง อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก โดยวิธี Soil Dilution Plate Technique เพื่อศึกษาศักยภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่ควบคุมเชื้อรา *Bipolaris* spp. สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าว สามารถคัดแยกเชื้อจากดินเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลท คือ BP01 BP02 BC01 และ BC 02 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Bipolaris* spp. ทั้งนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์เดียวกันสามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ โดย Liu et al. (2014) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* AR12, *B. subtilis* SM21 และ *Chryseobacterium* sp. R89 พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith และ โรคไหม้ไฟทอปจากเชื้อ *Phytophthora capsici* strain BP 05 ได้

2.5.3 การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์

เชื้อราปฏิปักษ์เป็นทางเลือกหนึ่งของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคโดยชีววิธี มีการนำเชื้อราปฏิปักษ์มาศึกษาเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคราสาเหตุโรคพืช เช่น *Diaporthe phaseolorum* var. *C. acutatum*, *Botrytis cinerea*, *R. solani*, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium middletonii*, *F. oxysporum*, *Bipolaris sorokiniana* (Abramczyk et al., 2022; Begum, Sariah, Zainal Abidin, Puteh, & Rahman, 2008; Freeman et al., 2004; Hernández-Castillo, Castillo-Reyes, Tucuch-Pérez, & Arredondo-Valdes, 2020; Rahman, Ansari, Alam, Moni, & Ahmed, 2018; Sood et al., 2020)

ปัจจุบันมีการศึกษานำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์เพื่อป้องกัน และควบคุมโรคพืช และช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตของพืช เช่น *Bacillus* spp. *Pseudomonas* spp. ในเรื่องการจัดการเชื้อสาเหตุโรคพืชและแมลงศัตรูพืช (Jahan, Sultana, Adhikary, Rahman, & Yasmin, 2013; Poveda & Eugui, 2022)

เวียงคำ จันทวงศ์, อนันต์ หิรัญสาดี, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล (2550) ได้ทดสอบนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือ *Streptomyces* - 15 และ *Trichoderma harzianum*

ทดสอบควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า *T. harzianum* สามารถลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในต้นมะเขือเทศได้ดีกว่า *Streptomyces* – 15 แต่ถ้าใช้เชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองเชื้อร่วมกันจะได้ประสิทธิภาพมากกว่าเชื้อเดี่ยว

ปณณวิชญ์ เย็นจิตต์, ธิดา เศษวบ, และวาริน อินทนา (2560) ได้ศึกษาการใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเมล็ดต่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในข้าว พบว่าการใช้ผงเชื้อ *Trichoderma* sp. NS-03 ร่วมกับผงเชื้อ *Bacillus* sp. NS-02 สามารถลดการเกิดโรคได้ เมื่อนำมาทดสอบในสภาพโรงเรือน โดยใช้ผงเชื้อปฏิปักษ์ที่ความเข้มข้น 2×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร นิดทุก 7 วัน จำนวน 2 ครั้ง สามารถลดการเกิดโรคได้สูงสุด 72.98 เปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี อามูเร่ 30% w/v EC (โพรพิโคนาโซล + ไดฟิโนโคนาโซล) ที่ลดการเกิดโรคได้ 73.71 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนิดควบคุมโรคเมล็ดต่างในแปลงนาสามารถลดการเกิดโรค 74.36 เปอร์เซ็นต์ และข้าวมีผลผลิตสูงถึง 940.50 กิโลกรัมต่อไร่

Senkovs, Nikolajeva, Makarenkova, and Petrina (2021) ศึกษาเชื้อปฏิปักษ์ *T. Asperellum* และ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช *Botrytis cinerea* พบว่า *T. asperellum* และ *B. subtilis* สามารถยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค *B. cinerea* มีสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถมีชีวิตรอดในดินระหว่างการทดลอง 60 วัน

เทอดพันธ์ ธรรมรัตน์พงษ์, ภัศรญณ หมั่นแจ้ง, อธิติ นามวงษ์, และสุจิตรา สุวรรณคดี (2564) ทดสอบวิธีควบคุมโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum* f. sp. cubense Tropical Race 4 (Foc TR4) ในโรงเรือนทดลอง พบว่าแนวทางควบคุมและป้องกันโรคตายพรายสามารถทำได้โดยการใช้ Calcium Oxide, CaO ปริมาณ 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร จีเถ้า 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร เชื้อรา *T. harzianum*-DOA 107 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แบคทีเรีย *B. subtilis* 3 กรัมต่อมิลลิลิตร หรือสารเคมี Captan 3 กรัมต่อลิตร รองกันหลุมหรือคอกดินรอบต้นกล้วย หรือด้วยวิธีการใดวิธีหนึ่ง หรือการใช้วิธีร่วมกัน จะช่วยปรับสภาพของดิน และลดการรอกของสปอร์เชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายที่จะเข้าทำลายต้นกล้วยหอมคาเวนดิชได้

นอกจากนี้ยังมีการนำสารชีวภาพเชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* และ *T. harzianum* ย่อยสลายสารเคมีกำจัดเชื้อรา *Penthiopyrad* ในดินแอปเปิ้ลของพันธุ์ Gala และ Golden Delicious พบว่า

สามารถสลาย Penthiopyrad 20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สามารถผลิตแอปเปิ้ลโดยวิธีที่รวดเร็ว ง่าย ราคาถูก มีประสิทธิภาพ และปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค (Podbielska et al., 2020)

2.6 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S Ribosomal RNA (16S rRNA)

โมเลกุล RNA ของแบคทีเรียที่ได้จากกระบวนการถอดรหัส (transcription) มี 3 ชนิด ได้แก่ mRNA, rRNA และ tRNA โดย rRNA สามารถคงสภาพในเซลล์ได้นาน และทำงานได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการแปลรหัส ซึ่งโมเลกุลของ rRNA ในแบคทีเรีย มีขนาด 70S สามารถแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ 23S rRNA, 16S rRNA และ 5S rRNA ซึ่งนิยมนำ 16S rRNA มาจำแนกแบคทีเรียด้วยลักษณะทางจีโนมที่พบได้ โดยใช้ผลวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกัน ในแบคทีเรียนิยมใช้ยีนในโอเปอรอน rRNA operon (rrn) โมเลกุล 16S rRNA gene (rrs) เนื่องจากมีในแบคทีเรียทุกชนิด มีความผันแปรทางวิวัฒนาการต่ำ ความเป็นบริเวณอนุรักษ์สูง มีความแปรผันน้อย และมีขนาดประมาณ 1.5 kb ซึ่งเพียงพอและเหมาะสมที่จะใช้เป็นข้อมูลสำหรับการนำมาจำแนกแบคทีเรีย (Janda & Abbott, 2007; Jill, 2004; Woo, Lau, Teng, Tse, & Yuen, 2008) มีความหลากหลายในแต่ละกลุ่มแบคทีเรียมีความจำเพาะในการจำแนกแบคทีเรียได้ในระดับสกุล (Genera) ดังนั้น เพื่อให้ทราบถึงความจำเพาะของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษายีน 16S rRNA

Ivey, Gardener, Opina, and Miller (2007) ได้ศึกษาความหลากหลายของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคเหี่ยวในมะเขือใน 5 จังหวัดบนเกาะลูซอน ประเทศฟิลิปปินส์พบว่าการทดสอบด้วย Multiplex PCR Amplification เพื่อเปรียบเทียบความเหมือนของ 16S rDNA พบว่า *R. solanacearum* Smith อยู่ใน Race 1 Biovar 3 หรือ 4

Kheirandisha and Harighi (2014) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจาก *R. solanacearum* Smith โดยเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่เก็บจากมันฝรั่งที่สมบูรณ์ ไม่มีอาการของโรคเหี่ยวในจังหวัดเคอร์ดิสถาน ประเทศอิหร่าน ซึ่งสามารถแยกเชื้อปฏิปักษ์ทั้งหมด 52 ไอโซเลต จากนั้นทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี สามารถคัดเลือกได้ 7 ไอโซเลต เพื่อนำไปศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ประกอบด้วย *P. fluorescens*

Pf11, *P. fluorescens* Pf16, *P. putida* Pp17, *Paenibacillus* sp. Pb28 and *Enterobacter* sp. En38, P.45 *fluorescens* Pp23 และ *Serratia* sp. Se40. และเมื่อมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith พบว่า Pf11, Pf16, Pp17 และ Pb28 สามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทดสอบในโรงเรือนพบว่า Pb28, Pp17 และ Pf11 สามารถยับยั้งการเกิดโรค 55.56, 51.50 และ 38.58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ชีวมวลของมันฝรั่งที่ใส่เชื้อปฏิปักษ์ Pb28, Pp17, Pf11 และ Pf16 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ต้องทดสอบในเชิงพาณิชย์อีกครั้ง

Nguyen and Ranamukhaarachchi (2010) ทดสอบการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศและพริกโดยชีววิธี ดำเนินการโดยเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างดินและรากของมะเขือเทศและพริกจากแปลงที่เป็นโรคเหี่ยว และไม่เป็นโรคในพื้นที่อำเภอ Doc Trong จังหวัด Lam Dong ประเทศเวียดนาม และอำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม นำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อปฏิปักษ์ สามารถแยกเชื้อปฏิปักษ์ จำนวน 73 ไอโซเลท จากนั้นทดสอบการยับยั้งเชื้อในห้องทดลองด้วยวิธี Filter Paper Disk วิธี Perforated Agar Plate และวิธี Cross Streak สามารถคัดเลือกได้ 8 ไอโซเลท นำไปทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี และนำไปศึกษาลำดับนิวคลีโอไทป์ของยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. megaterium*, *Enterobacter cloacae* และศึกษาลำดับนิวคลีโอไทป์ของยีน 26S rRNA ได้อีก 1 ชนิด คือ *Pichia guilliermondii* plus *Candida ethanolica*

วารุณี คงดวล, น้ำทิพย์ พิธณฤทธิ, ชลิดา เล็กสมบุญ, และอรพรรณ ชัชวาลการพาณิชย์ (2557) ศึกษาลักษณะทางอนุชีวโมเลกุลของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ที่พบในประเทศไทย จำนวน 41 สายพันธุ์ ระดับ Division และ Phylotype โดยใช้ส่วนของ 16S rRNA gene และ ITS gene ตามลำดับด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ ได้แก่ ไพรเมอร์ DIV1F และ DIV1R ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อใน Division 1 ที่พบในทวีปเอเชีย ไพรเมอร์ DIV2F และ DIV2R มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อใน Division 2 พบในทวีปอเมริกา จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *R. solanacearum* Smith ทั้ง 41 สายพันธุ์จัดอยู่ใน Division 1 ซึ่งตรวจพบ PCR Product ขนาด 1,019 คู่เบส และสามารถยืนยันได้ว่าเชื้อ *R. solanacearum* Smith ทั้ง 41 สายพันธุ์จัดอยู่ใน Division 1 ด้วยไพรเมอร์ OLI1/BV345 ซึ่งให้ PCR product ขนาด 409 คู่เบส สำหรับการจำแนกในระดับ Phylotype ด้วยวิธี Multiplex PCR พบว่าเชื้อทั้ง 41 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษาจัดอยู่ใน Phylotype 1 พบ PCR product ขนาด 144 คู่เบส จากนั้นนำตัวแทนเชื้อ *R. solanacearum* Smith จำนวน 9 สายพันธุ์ที่จัดอยู่ใน Race 1, Division 1 และ Phylotype 1 โดยมีความแตกต่างกันของ Biovar พืชอาศัยและภูมิภาค มาเปรียบเทียบลำดับ

นิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และ ITS gene พบว่าเชื้อ *R. solanacearum* Smith ทั้ง 9 สายพันธุ์ที่คัดเลือกมานั้นไม่มีความแตกต่างกัน

Pastrik, Elphinstone, and Pukall (2002) ศึกษาวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) สำหรับตรวจหาและแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ *R. solanacearum* Smith เปรียบเทียบข้อมูลลำดับ ITS ของยีน 16S–23S rRNA เปิดเผยกลุ่มลำดับหลักสองกลุ่ม (แผนก I และ II) ของ *R. solanacearum* Smith และกลุ่มย่อยเพิ่มเติมของการหาร II จากข้อมูลลำดับนี้ไพรมอร์ได้รับการออกแบบ ซึ่งแบ่งแยกวิชัน I และ II นอกจากนี้ เพื่อปรับปรุงความน่าเชื่อถือของการทดสอบ PCR สำหรับการตรวจจับ *R. solanacearum* Smith ในพืชเจ้าบ้าน การทดสอบแบบ Multiplex PCR ได้รับการพัฒนาขึ้น ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อสาเหตุโรคเมื่อรวมเข้ากับ DNA ของพืชเจ้าบ้านเป็นควบคุม PCR ภายใน (IPC) การทดสอบได้ทดสอบตัวอย่างมันฝรั่ง จำนวน 4,300 ตัวอย่างจาก 143 สายพันธุ์ พบว่ามี 13 สายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบมีผลบวกทั้งในการตรวจแบบมัลติเพล็กซ์ PCR และอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (IF) สามารถยืนยันได้โดยการตรวจทางชีวภาพในมะเขือเทศต้นกล้า และการแยกตัวของเชื้อสาเหตุโรค IPC ประสบความสำเร็จในการขยายจากตัวอย่างทั้งหมดที่ทดสอบต่อไป ซึ่ง 12 ตัวอย่างให้ผลบวกของ IF ซึ่งยังไม่ได้การยืนยันจากการตรวจวิเคราะห์ทางชีวภาพแบบมัลติเพล็กซ์ PCR หรือมะเขือเทศบ่งชี้ความเฉพาะเจาะจงมากขึ้น

Cho et al. (2018) ได้ศึกษาการแยกเชื้อ *R. solanacearum* Smith สปีชีส์คอมเพล็กซ์ (RSSC) สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 Phylotypes และเป็นสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีความหลากหลายที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ในประเทศเกาหลีใต้ โดยสามารถแยกเชื้อสาเหตุโรคจากมันฝรั่งได้ 93 ไอโซเลต มีจำนวน 22 ไอโซเลต ระบุเป็นไบโอวาร 2 จำนวน 8 ไอโซเลต ระบุเป็นไบโอวาร 3 และจำนวน 63 ไอโซเลต เป็นไบโอวาร 4 เมื่อนำไปใช้กับรูปแบบ Phylotype ไบโอวาร 3 และ 4

Yanti, Reelin, and Nasution (2018) ศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith และทำการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โรคเหี่ยว คือ *Bacillus* spp. หนึ่งในสกุลที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจาก *Bacillus* spp. มีการสร้างสปอร์ช่วยให้สามารถแบคทีเรียสามารถปรับตัว และทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม วัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ เพื่อแยกเอนโดไฟติกบาซิลลัสที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ควบคุมเชื้อโรค และใช้ 16S rRNA ระบุชนิดของบาซิลลัสที่แยกได้จากรากมะเขือเทศ มีการออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 3 ซ้ำ และระบุชนิด

โดยใช้ 16S rRNA ด้วยไพรเมอร์ 27F : 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG - 3' และ 1492R : 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' ผลการวิจัยพบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรียกปฏิบัติได้ทั้งหมด 15 ชนิด โดยมี 6 ชนิดที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้ดีคือ *B. pseudomycoides* NBRC 101232, *B. cereus* CCM 2010, *B. toyonensis* BCT-7112, *B. anthracis* ATCC 14578, *B. cereus* JCM 2152 และ *B. cereus* ATCC 14579

Singh, Yadav, Chaudhary, Rana, and Sharma (2016) ได้ศึกษาไรโซแบคทีเรียจำนวน 57 สายพันธุ์ที่แยกได้จากดินบริเวณไรโซสเฟียร์ของต้นมะเขือเทศที่มีอาการเหี่ยว และในจำนวนนี้มี 2 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการต่อต้านโรคเหี่ยว และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดี เมื่อนำมาวิเคราะห์ลำดับยีนบริเวณ 16S rRNA สามารถจำแนกเป็น *B. amyloliquefaciens* DSBA-11 และ DSBA-12 จากนั้นทำการวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน และทดสอบความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith race 1, bv 3, phylotype I เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศภายใต้สภาวะหลอดทดลองของ DSBA-11, DSBA-12 เปรียบเทียบกับ *Bacillus* ชนิดอื่นๆ เช่น *B. subtilis* DTBS-5, *B. cereus* JHTBS-7, *B. pumilus* MTCC-7092 พบว่า *B. amyloliquefaciens* DSBA-11 มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ได้ดีที่สุด (4.91 cm²) รองลงมา DSBA-12 (3.31 ซม.²) และ *B. subtilis* (3.07 cm²) นอกจากนี้ DSBA-11 มีความสามารถในการละลายฟอสฟอรัสได้ดีที่สุด (42.6 µg/ml) และมีการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโต Indole Acetic Acid (95.4 µg/ml) มากกว่า *Bacillus* spp. สายพันธุ์อื่นๆ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยว และความสามารถในการกระตุ้นและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เมื่อทดสอบกับมะเขือเทศพันธุ์ Pusa Ruby ภายใต้สภาพเรือนกระจก พบว่าหลัง 30 วันที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ ต้นมะเขือเทศมีระดับการเกิดโรคเหี่ยวขั้นต่ำ (17.95%) โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติที่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุด คือ *B. amyloliquefaciens* DSBA-11 รองลงมา คือ *B. amyloliquefaciens* DSBA-12, *B. amyloliquefaciens* DSBA -12 และ *B. pumilus* MTCC- 7092

บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของคากาผลาแยกบริสุทธิ์จากต้นคากาผลาที่แสดงอาการโรคเหี่ยวที่รวบรวมจากแปลงเกษตรกรพื้นที่อำเภอธารโต และอำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา

3.1.2 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์รวบรวมจากดินในแปลงปลูกคากาผลาของเกษตรกร และป่าชุมชนในพื้นที่อำเภอธารโต อำเภอบันนังสตา และอำเภอเมืองยะลา จังหวัดยะลา อำเภอเวียงและอำเภอสุดริน จังหวัดนราธิวาส

3.1.3 เชื้อรา *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* และ *Trichoderma asperellum* ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.สุวิตา แสไพศาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 เครื่องเขย่าสาร (Orbital Shaker; WiZard รุ่น WZ-Shaker, Thailand)

3.2.2 เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer Genie 2; Scientific Industries, U.S.A)

3.2.3 เตาไมโครเวฟ (Microwave Oven; SHARP รุ่น R-270, Thailand)

3.2.4 ไมโครปิเปต (Micropipette; Gilson รุ่น Pipetman Classic, France)

3.2.5 เครื่องชั่งดิจิตอล (Electronics balance; CITIZEN รุ่น CY420, U.S.A)

3.2.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV/Vis Spectrophotometer; Biochrom รุ่น Libra S22, UK)

3.2.7 ตู้แช่แข็ง (Freezer; PANASONIC รุ่น SCR-MFR300H2, Japan)

3.2.8 เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (Gel electrophoresis) Power supply: Model EC 135-90, E-C Apparatus Corporation, U.S.A)

3.2.9 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator; MEMMERT รุ่น INE 800, Germany)

3.2.10 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycle (PCR), GeneAmp™ PCR System 9700, U.S.A)

3.2.11 เครื่องถ่ายภาพเจล เซ่น (Gel-Documentation: Syngene, U.S.A) และเครื่อง UV Transilluminator: 2011 MA Crovue, San Gabriel, U.S.A

3.2.12 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath; Charles Hearson Co. Ltd., England)

3.2.13 ตู้ถ่ายเชื้อ (Luminar flow ; GT-900SS, GTech, Thailand)

3.2.15 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave; Sanyo, MLS-3020, Japan)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1.1 Potato Dextrose Agar (PDA, Himedia™ , India)

3.3.1.2 Nutrient Agar (NA, Himedia™ , India)

3.3.1.3 Nutrient Broth (NB, Himedia™ , India)

3.3.1.4 Lysogeny Broth (LB, Miller, Difco™ & BBL™, U.S.A)

3.3.1.5 Tryptic Soy Agar (TSA, Difco™ & BBL™, U.S.A)

3.3.2 สารเคมี

3.3.2.1 Glycerol, Qrec, Newzealand

3.3.2.2 TBE Buffer (10x), SERVA, Germany

3.3.2.3 Ethidium Bromide, Sigma, U.S.A

3.3.2.4 Iso – Propanol, Q RêC™, New Zealand

3.3.2.5 2X PCR Mastermix Gotaq Green (Promega, U.S.A.)

3.3.2.6 Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, U.S.A.)

3.3.2.7 Agarose, Sigma, U.S.A

3.3.2.8 Sodium Chloride, KemAus™, Australia

3.3.2.9 Crystal violet, Loba Chemie™ / India

3.3.2.10 Sodium acetate (NaOAc), Sigma, U.S.A

3.3.2.11 ไพรมเมอร์ 27F: 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG - 3'
1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'

3.3.2.12 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (Sigma, U.S.A)

3.3.2.13 Sodium hydrogen phosphate dodecahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Loba Chemie™, India)

3.3.2.14 Calcium Nitrate Tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Himedia, India)

3.3.2.15 Peptone (Himedia™, India)

3.3.2.16 Sucrose (Loba Chemie™, India)

3.3.2.17 Agar (Himedia™, India)

3.3.2.18 Glucose, Innovating Science, U.S.A

3.3.2.19 Casein hydrolysate, Sigma, U.S.A

3.3.2.20 Casein Enzyme Hydrolysate, Himedia™, India

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกบริสุทธิ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ

ดำเนินการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และรวบรวมเชื้อปฏิบัณ โดยเก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงปลูกคาลาของเกษตรกรและปทุมชนที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวในพื้นที่อำเภอธารโต อำเภอบันนังสตาและอำเภอเมือง จังหวัดยะลา อำเภอเวียงและอำเภอสุคีริน จังหวัดนราธิวาส เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกคาลาเป็นจำนวนมาก และมีรายงานการระบาดของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว โดยทำการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

3.4.1.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว

(1) การเก็บรวบรวมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว

ดำเนินการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวจากดิน และต้นคาลาที่มีการแสดงอาการของโรคเหี่ยวจากแปลงปลูกในพื้นที่อำเภอธารโตและอำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา โดยเลือกเก็บ

ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวมากในจำนวนตัวอย่างที่มากกว่าพื้นที่ที่มีการระบาดน้อย รวมทั้งสิ้น 20 ตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างดิน ทำโดยใช้จอบขุดหน้าดินที่มีความลึก 15 เซนติเมตร จำนวน 3 ตัวอย่าง นำดินทั้งหมดผสมรวมกันในถุงพลาสติกให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัมต่อตัวอย่าง มัดปากถุงให้ปิดสนิท และการเก็บตัวอย่างต้นคาหลาที่เป็นโรคเหี่ยว โดยการขุดต้นคาหลาให้มีเหง้าติดมาด้วย ตัดลำต้นเทียมบางส่วนออกให้เหลือความยาวจากเหง้าถึงลำต้นเทียม 15-20 เซนติเมตร บรรจุถุงพลาสติก และมัดปิดปากถุงให้สนิท

(2) การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว

(2.1) การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดิน ทำการชั่งตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมได้ จำนวน 10 ตัวอย่าง ๆ ละ 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้วปริมาตร 90 มิลลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วพักทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 10 นาที ทำการเจือจางเป็นลำดับครั้งละ 10 เท่า (Serial Dilution) ความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-2} งดสารละลายตัวอย่างละ 0.1 มิลลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA หลังจากนั้นเกลี่ยให้เชื้อกระจายให้ทั่วผิวอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate) บ่มเชื้อเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ค่อนข้างกลม มีสีขาวขุ่น คาดว่าจะเป็นของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith เพื่อเปรียบเทียบกับโคโลนีอีกครั้ง จึงทำการย้ายเชื้อโดยวิธีการ streak plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA อีกครั้ง บ่มเชื้อเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และนำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวทำการทดลองต่อไป (วงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ, 2549)

(2.2) การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากต้นคาหลา โดยนำหน่อคาหลาแต่ละตัวอย่างไปล้าง ทำความสะอาดภายนอก แล้วตัดชิ้นส่วนบริเวณโคนต้นยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 มิลลิตร และปิดจุกยางทิ้งไว้ 10 นาที จะพบกลุ่มของแบคทีเรียสีขาวขุ่น (Bacterial Ooze) ไหลออกมาเป็นสาย (Kelman, 1954) จากนั้นจึงคัดเลือกตัวอย่างที่เกิด Bacterial Ooze ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยการนำห่วงเย็บเชื้อ (Loop) ไปคนสลับไปมาให้เชื้อกระจายให้ทั่วในหลอดทดลอง จากนั้นนำเชื้อมา Streak Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA ตัวอย่างละ 2 จาน บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และตรวจผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และคัดเลือกลักษณะโคโลนีเดี่ยว ค่อนข้างกลม มีสีขาวขุ่น เยิ้ม นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ Streak Plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA ตัวอย่างละ 2 จาน บ่มเชื้อไว้ประมาณ 2 วัน ที่อุณหภูมิห้องแล้วนำเชื้อไปทำการทดลองต่อไป

(3) การทดสอบเชื้อ *R. solanacearum* Smith โดยอาหารกึ่งจำเพาะ นำเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งจำเพาะ Tripenyl Tetrazolium Chloride (TZC) โดยทำการขีดเชื้อ (Streak Plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC ตัวอย่างละ 2 จาน บ่มเชื้อไว้ประมาณ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ศึกษาลักษณะโคโลนี ซึ่งมี 2 ประเภท คือ โคโลนีเยิ้ม สีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน มีเมือกสีขาวรอบๆ โคโลนี จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (Virulent strain) และโคโลนีสีแดงเข้ม ไม่มีสารเมือกรอบๆ โคโลนี เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคไม่รุนแรง (Avirulent strain) (Kelman, 1954)

3.4.1.2 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ

(1) การเก็บรวบรวมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกดาหลาที่ไม่มีการแสดงอาการของโรคเหี่ยวในพื้นที่อำเภอธารโต อำเภอบันนังสตา และอำเภอเมือง จังหวัดยะลา จำนวน 12 ตัวอย่าง พื้นที่อำเภอเวียง และอำเภอสุคีริน จังหวัดนราธิวาส จำนวน 8 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 20 ตัวอย่าง โดยเก็บดินในแปลงปลูก จำนวน 10 จุด และดินบริเวณรอบราก (Rhizosphere) ของต้นดาหลา จำนวน 10 จุด รวมเป็น 20 ตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกดาหลา ทำการขุดหน้าดินที่มีความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จำนวน 3 จุด นำดินมาผสมรวมกันในถุงพลาสติกให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ต่อตัวอย่าง บรรจุใส่ถุง และมัดปิดปากถุงให้สนิท ส่วนดินบริเวณ Rhizosphere ทำการขุดดินติดบริเวณต้นดาหลา โดยขุดให้ติดเหง้าและรากของดาหลาด้วย บรรจุใส่ถุงและมัดปิดปากถุงให้สนิท

(2) การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ

(2.1) แยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินในแปลง และแยกเชื้อจากดินรอบรากดาหลา (Rhizosphere) โดยชั่งตัวอย่างดิน จำนวน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 90 มิลลิลิตรเข้าเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง พักให้สารละลายตกตะกอน 10 นาที ทำการเจือจาง (Serial Dilution) ความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3}

(2.2) นำสารละลายความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดินด้วยวิธี Heat Treatment Method เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่มีการสร้างเอนโดสปอร์โดยนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (ปิยรัตน์ นามเสนา, 2561)

(2.3) คูลสารละลายตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} แล้ว Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ความเข้มข้นละ 2 จาน บ่มเชื้อไว้ 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบ 4 วัน ทำการเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี Streak Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

หลังจากนั้นบ่ม เชื้อ 4 วันที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเปรียบเทียบโคโลนีอีกครั้ง แล้วนำเชื้อไปทำการทดลองต่อไป

3.4.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการ

การทดลองนี้เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Paper Disc Diffusion Method (พรนิภา ถาโน และอังสนา อัครพิศาล, 2561) มีวิธีการ คือนำเชื้อ *R. solanacearum* Smith และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB นำไปเข้ายาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 180 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คูดเชื้อ *R. solanacearum* Smith ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ทำการ Spread Plate ให้แห้งพอหมาดวางกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร 4 มุม โดยแต่ละมุมให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 ซม. คูดเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ แผ่นละ 1 ตัวอย่าง รอให้กระดาษแห้งปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปั่นจานเลี้ยงเชื้อด้วยพาราฟิล์ม นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อโดยวัดความกว้างของบริเวณใส (Clear Zone) จากขอบโคโลนีเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะถึงขอบบริเวณใส และคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้ 30 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เพื่อนำไปทดสอบยืนยันประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ต่อไป (ณัฐจิมา โหมยิตเจริญกุล และคณะ, 2557; วงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ, 2549)

3.4.3 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบนี้เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Paper Disc Diffusion Method นำเชื้อ *R. solanacearum* Smith และเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะไอโซเลทที่คัดเลือกไว้ว่ามีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค ตั้งแต่ 30 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB นำไปเข้ายาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 180 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นคูดเชื้อ *R. solanacearum* Smith ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารอาหาร NA ทำการ Spread Plate ให้แห้งพอหมาด

วางกระดาษที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ คัดเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์จำนวน 30 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ รอให้กระดาษแห้งปิดฝา พับจานเลี้ยงเชื้อด้วยพาราฟิล์ม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจการยับยั้งเชื้อโดยวัดความกว้างของบริเวณใส (Clear Zone) จากขอบโคโลนีเชื้อปฏิบัณช์ถึงขอบบริเวณใส และคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้ดี นำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth; PIRG) เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนอื่นๆ ต่อไป (ณัฐจิมา โหมยิตเจริญกุล และคณะ, 2557; วงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ, 2549)

3.4.4 ทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคอื่น

ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 3 ชนิด คือ *Corynespora cassiicola* เชื้อราสาเหตุโรคใบจุดก้างปลา *Colletotrichum gloeosporioides* เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อ *Fusarium oxysporum* เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลือง และเชื้อราปฏิบัณช์ 1 ชนิด คือ *Trichoderma asperellum* โดยใช้เทคนิค Dual Culture (ปัทมวิษญ์ เย็นจิตต์ และคณะ, 2560) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และหาคะควบคุมวางเฉพาะเชื้อรา ดำเนินการใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะส่วนวุ้นเส้นใยเชื้อรานั้นไปวางบนอาหาร PDA ตรงตำแหน่งที่กำหนด จากนั้นใช้ไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์จีดบนอาหารเป็นแนวยาว 4 เซนติเมตร และให้ห่างจากเชื้อรา 5 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 วัน วัดรัศมีโคโลนีของเชื้อราในชุดทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.4.5 จำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA

3.4.5.1 การเตรียมตัวอย่าง โดยคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ไอโซเลทที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด 5 อันดับแรกจากข้อ 3.4.3 และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการสะกิดเชื้อปฏิบัณช์ 5 ไอโซเลท และเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว ลงไปในหลอดที่มี TE 100 ไมโครลิตร เขย่าผสมสาร (Vortex) นาน 20 วินาที แล้วพักตัวอย่าง 20 นาที คัดสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ 1 ไมโครลิตรใส่หลอด PCR ผสมสารอื่น สำหรับทำปฏิกิริยา PCR ตามตารางที่ 3.1 จากนั้นเขย่าสาร

ให้เข้ากัน และนำตัวอย่างไปเข้าเครื่อง PCR และตั้งโปรแกรมของเครื่องตามตาราง ที่ 3.2 จากนั้นนำผลผลิตของ PCR มาวิเคราะห์ขนาดด้วยวิธีอะกาโรสอิเล็กโตรโฟริซิสต่อไป

ตารางที่ 3.1 สารละลายสำหรับทำปฏิกิริยา PCR

สาร	ความเข้มข้น	ปริมาณ (ไมโครลิตร)
- Go taq green mastermix	1X	10
- Primer - 27F	1.0 μ M	1.5
- Primer - 1492R	1.0 μ M	1.5
- สารละลายเชื้อแบคทีเรีย	-	1
- ddH ₂ O	-	6
รวม		20

ตารางที่ 3.2 การตั้งโปรแกรมของเครื่อง PCR

Step	Temperature	Time	No. of cycles
1. Pre – denaturation	95°C	2 min	1
2. Denaturation	94°C	30 sec	30
Annealing	55°C	30 sec	
Extension	72°C	30 sec	
3. Final Extension	72°C	5 min	1

3.4.5.2 การตรวจวิเคราะห์ขนาดของผลผลิตจาก PCR ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟริซิส ด้วยอะกาโรสเจล 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยซังอะกาโรส 1.5 g เติม 1X TBE Buffer 100 ml รันเจลภายใต้ความต่างศักย์ 90 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยเปรียบเทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 KB DNA Ladder 1 ไมโครลิตร ตรวจสอบเจลที่ได้ด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.4.5.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System แล้วส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ First BASE Laboratories Malaysia นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลที่บันทึกไว้ในฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) จากนั้นนำมาจำแนกชนิด (Species) และวิเคราะห์ความเหมือนกันโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16 S

rRNA กับลำดับนิวคลีโอไทด์ใน GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTN โดยเปรียบเทียบกับยีนที่คล้ายกันในฐานะข้อมูลที่มีอยู่

3.4.6 การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเหี่ยวในห้องทดลอง โดยใช้มะเขือเทศพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith คัดแปลงจากทวินันท์ บางขาม และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล (2564) วางแผนการทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 6 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อปฏิชีวนะไอโซเลท ที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อปฏิชีวนะไอโซเลท ที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อปฏิชีวนะไอโซเลท ที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ดินผสม *R. Solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อปฏิชีวนะไอโซเลท ที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อปฏิชีวนะไอโซเลท ที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดไม่คลุกเชื้อปฏิชีวนะ (กรรมวิธีควบคุม)

3.4.6.1 การเตรียมดินปลูกมะเขือเทศที่มีเชื้อ *R. solanacearum* Smith

(1) นำดินไปอบฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

(2) เพาะเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรค *R. solanacearum* Smith เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เตรียมเซลล์แขวนลอยโดยใช้น้ำกลั่นล้างเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทลงบนอาหาร TZC ใช้ Loop เขี่ยเชื้อที่หน้าอาหารให้ออกจากผิวหน้าอาหารนำไปปรับระดับความเข้มข้นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 nm เท่ากับ 0.2 ความเข้มข้น 1.0×10^8 CFU/ml

(3) นำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ผสมกับดินที่ฆ่าเชื้อแล้ว ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ดิน 8 กิโลกรัม คลุกผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปใส่ภาชนะปลูกจำนวน 100 กรัมต่อกระถาง จำนวน 36 กระถาง

3.4.6.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ไอโซเลท เลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยโดยใช้น้ำกลั่นล้างเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทลงบน

อาหาร NA ใช้ Loop เขี่ยเชื้อที่หน้าอาหารให้ออกจากผิวหน้าอาหาร นำไปปรับระดับความเข้มข้นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 nm เท่ากับ 0.2 เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1.0×10^8 CFU/ml

3.4.6.3 การเตรียมเมล็ดมะเขือเทศ

นำเมล็ดมะเขือเทศแช่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแช่ 10% Clorox เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเมล็ดมะเขือเทศแช่ในเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิบักษ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.4.6.4 นำเมล็ดมะเขือเทศลงปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* Smith ที่เตรียมไว้รดเชื้อแบคทีเรียปฏิบักษ์ตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อกระถาง บันทึกผลการทดลองทุก ๆ 15 วันหลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 45 วัน โดยประเมินการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค ด้วยการให้ค่าคะแนนการเกิดของโรคตั้งแต่ 1-5 ตามอาการของพืช โดยดัดแปลงของ Winstead and Kelman (1952) ดังนี้

- 0 หมายถึง พืชปกติ (healthy plant)
- 1 หมายถึง ใบเหี่ยว 1 ใบต่อด้าน (one leaflet or leaf wilting)
- 2 หมายถึง มีรากงอกตามลำต้น
- 3 หมายถึง 1/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (1/3 of plant wilting)
- 4 หมายถึง 2/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (2/3 of plant wilting)
- 5 หมายถึง แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นหรือต้นตาย (whole plant wilting or dead)

การให้ค่าคะแนนความรุนแรงของโรค ดังนี้

นำค่า ระดับความรุนแรงของโรคที่ประเมินได้ไปคำนวณหาค่าดัชนีความรุนแรงของโรค จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \left[\frac{\sum (\text{ระดับความรุนแรง} \times \text{จำนวนต้นมะเขือเทศที่ระดับความรุนแรงนั้นๆ})}{\text{ระดับความรุนแรงสูงสุด} \times \text{จำนวนต้นมะเขือเทศทั้งหมดที่นำมาทดสอบ}} \right] \times 100$$

(3-1)

3.4.7 ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียเชื้อปฏิบักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวดาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง

3.4.7.1 การเตรียมดินปลูกดาหลาที่มีเชื้อ *R. solanacearum* Smith

นำดินไปอบฆ่าเชื้อ จากนั้นนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ที่มีความเข้มข้น 1.0×10^8 CFU/ml ผสมกับดินที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อดิน 8 กิโลกรัม

คลุกผสมให้เข้ากัน ตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith โดยวิธี Serial Dilution Plate อีกครั้ง และนำดินที่ผสมเชื้อแล้วใส่กระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว จำนวน 800 กรัมต่อ กระถาง จำนวน 28 กระถาง

3.4.7.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิกรณ์

นำเชื้อปฏิกรณ์ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการมาทำเป็นสารแขวนลอยแบคทีเรียความเข้มข้น 1.0×10^8 CFU/ml

3.4.7.3 ทดสอบควบคุมโรคเหี่ยวของดาหลาในสภาพเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Complete by Randomize Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี

4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เชื้อปฏิกรณ์ไอโซเลท ที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เชื้อปฏิกรณ์ไอโซเลท ที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เชื้อปฏิกรณ์ไอโซเลท ที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เชื้อปฏิกรณ์ไอโซเลท ที่ 4

กรรมวิธีที่ 5 ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เชื้อปฏิกรณ์ไอโซเลท ที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 ดินผสม *R. solanacearum* Smith (กรรมวิธีควบคุม)

3.4.7.4 นำต้นดาหลาที่มีลักษณะแข็งแรง ปราศจากโรคและแมลง อายุ 8 เดือน ซึ่งปลูกในกระถาง นำมาย้ายลงปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* Smith ที่เตรียมไว้ ตามกรรมวิธี ที่ 1 ถึง 6 ใช้เข็มทำแผลและทาด้วยสารแขวนลอยเชื้อสาเหตุโรคให้เกิดบาดแผลบริเวณรอยต่อต้น เทียมกับเหง้า จากนั้นรดแบคทีเรียปฏิกรณ์ทันทีหลังทำแผลเสร็จ ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น และเมื่อครบ 15 วัน รดเชื้อแบคทีเรียปฏิกรณ์อีกครั้ง

3.4.7.5 บันทึกผลตรวจผลการทดลองทุกๆ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 1 เดือน ประเมินระดับการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคยืนยันการเกิดโรคเหี่ยว ดัดแปลงจาก อทิทยา คำวินิจ, อังสนา อัครพิศาล, พรสุข ชัยสุข, ธีรนิติ พวงกฤษ, และเฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ (2565) ดังนี้ ระดับการเกิดโรค

0 = ไม่แสดงอาการ

1 = ใบม้วนหรือเหี่ยวลู่ลง 1-2 ใบ จากใบล่าง (ต้นสีเขียว)

2 = ใบม้วนหรือเหี่ยวลู่ลง มากกว่า 2 ใบ (ต้นสีเขียว)

3 = ใบม้วนหรือเหี่ยวทั้งต้นและต้นเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

4 = ใบม้วนหรือเหี่ยวทั้งต้น ต้นเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และโคนต้นฉ่ำน้ำ

5 = โคนต้นฉ่ำน้ำ และต้นล้มตาย

เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (disease incidence)

$$\text{ความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\sum (\text{จำนวนต้นดาหลาที่เป็นโรคในแต่ละระดับ} \times \text{ระดับการเกิดโรค}) \times 100}{\text{จำนวนต้นดาหลาทั้งหมดที่ทำการทดสอบ} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}}$$

(3-2)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในดาหลาในโรงเรือนทดลองที่ใช้เชื้อปฏิปักษ์แตกต่างกัน มาวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี ANOVA และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS v.26



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

4.1.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

4.1.1.1 ผลการรวบรวมเก็บตัวอย่างดินและต้นคาหลาในแปลงที่มีการแสดงอาการโรคเหี่ยว จำนวน 20 ตัวอย่าง (ตามรูปที่ 4.1) พบว่าพื้นที่ตำบลบ้านแห อำเภอรือเสาะ จังหวัดยะลา มีการระบาดของโรคนี้ค่อนข้างมาก จึงทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างดินบริเวณรอบกอคาหลาที่เป็นโรค จำนวน 8 ตัวอย่าง และเก็บต้นคาหลาที่แสดงอาการโรคเหี่ยว จำนวน 8 ตัวอย่าง เช่นเดียวกันกับพื้นที่ตำบลบันนังสตา อำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา พบว่ามีการระบาดของโรคนี้เป็นจุดๆ จึงทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบกอคาหลาที่เป็นโรค จำนวน 2 ตัวอย่าง และเก็บต้นคาหลาที่แสดงอาการโรคเหี่ยว จำนวน 2 ตัวอย่าง

4.1.1.2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากตัวอย่างดินในแปลงปลูกคาหลาตามวิธี Soil Dilution Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA และแยกจากลำต้นคาหลาที่แสดงอาการของโรคด้วยวิธีตัดขวางลำต้นและแช่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ และนำ Bacterial Ooze มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA และทำการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ค่อนข้างกลม มีสีขาวขุ่นตามรูปที่ 4.2 ซึ่งคาดว่าจะเป็ของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith ผลการแยกเชื้อโดยวิธีนี้พบว่าพื้นที่อำเภอรือเสาะสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากดินได้ จำนวน 2 ไอโซเลท และแยกจากลำต้นคาหลาเป็นโรค จำนวน 4 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้นจำนวน 6 ไอโซเลท ส่วนอำเภอบันนังสตาไม่สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว เพราะเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดน้อย และอาจจะเกิดจากเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการเหี่ยวไม่ชัดเจน ส่งผลให้ไม่สามารถแยกเชื้อจากตัวอย่างของอำเภอบันนังสตาได้ดังแสดงในตารางที่ 4.1

4.1.1.3 การทดสอบเชื้อ *R. solanacearum* Smith โดยอาหารกึ่งจำเพาะ TZC พบว่าลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์ได้จากดิน และจากลำต้นคาหลาที่เป็นโรค มีรูปร่างไม่แน่นอน ขอบโคโลนีมีสีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน ถึงสีแดงอ่อน เย็น มีเมือกสี

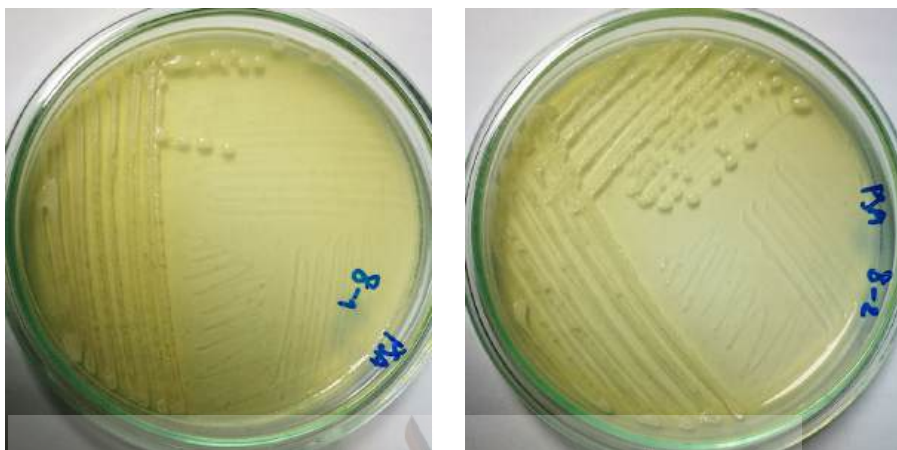
ขาวรอบ ๆ โคลนินี้ ดังแสดงในรูป 4.3 ซึ่งมีฐานันฐานวิทยาเบื้องต้นตรงกับเชื้อ *R. solanacearum* Smith จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (Virulent Strain) ตามรายงานของ Kelman (1954)

ตารางที่ 4.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างและจำนวนไอโซเลทเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค
ที่แยกจากแปลงคาลาที่แสดงอาการของโรคเหี่ยว

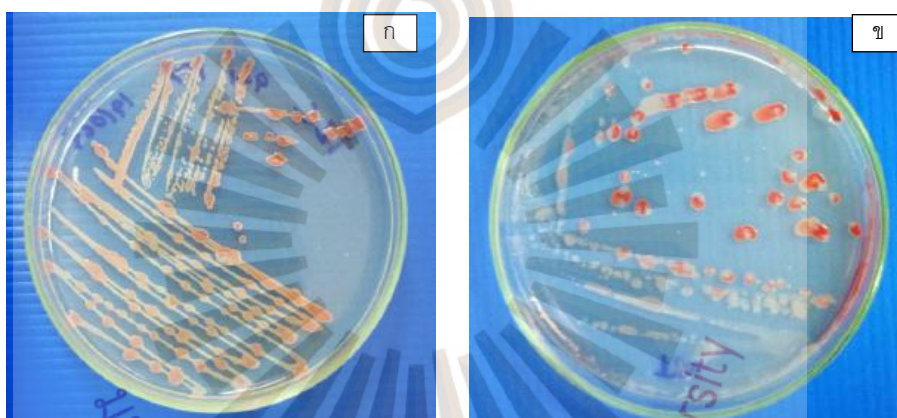
ลำดับ ที่	สถานที่เก็บตัวอย่าง	ตัวอย่าง (จำนวน)		เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค (ไอโซเลท)		
		ดิน	ต้นคาลา	ดิน	ต้นคาลา	รวม
1	ต.บ้านแหร อ.ธารโต จ.ยะลา	8	8	2	4	6
2	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	2	2	0	0	0
	รวม	10	10	2	4	6



รูปที่ 4.1 แปลงคาลาที่เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว อำเภอธารโต จังหวัดยะลา



รูปที่ 4. 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA 48 ชั่วโมง (ก) ไอโซเลต RSYL-1 (ข) ไอโซเลต RSYL-2



รูปที่ 4. 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*R. solanacearum* Smith) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC 48 ชั่วโมง (ก) ไอโซเลต RSYL-1 (ข) ไอโซเลต RSYL-2

4.1.2 การรวบรวมเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรียปฏิบัติ

ผลการรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติจากตัวอย่างดินในแปลง และดินบริเวณรอบ ๆ ราก (Rhizosphere) ของต้นคากาในแปลงที่ไม่มีการระบาดของโรคเหี่ยว (ตามรูปที่ 4. 3) ในพื้นที่จังหวัดยะลา จำนวน 3 แห่ง ได้แก่ อำเภอธารโต อำเภอบันนังสตา และอำเภอเมืองยะลา โดยเก็บตัวอย่างแต่ละ 3, 2, 1 ตัวอย่างตามลำดับ และพื้นที่จังหวัดนราธิวาส 2 แห่ง ได้แก่ อำเภอเวียง และอำเภอสือริน จำนวนอำเภอละ 2 ตัวอย่างรวมตัวอย่างดินในแปลงปลูกคากาที่เก็บได้ จำนวน 10 ตัวอย่าง สำหรับการเก็บตัวอย่างดินบริเวณ Rhizosphere เก็บทุกพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดิน ในแปลงปลูก

และจำนวนตัวอย่างเท่ากันด้วย รวมตัวอย่างดินที่เก็บได้ทั้งสิ้น 20 ตัวอย่าง ผลการแยกเชื้อบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการตามวิธี Soil Dilution Spread Plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย TSA พบว่าสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากอำเภอธารโต อำเภอบันนังสตา อำเภอเมืองยะลา อำเภอเวียง และอำเภอสุดิริน ได้จำนวน 49, 17, 11 , 6 และ 14 ไอโซเลตตามลำดับ รวมทั้งสิ้น จำนวน 97 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างและจำนวนไอโซเลตเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากแปลงคานาที่ไม่มีการระบาดของโรคเหี่ยว

ลำดับ ที่	สถานที่เก็บดิน ตัวอย่าง	ตัวอย่าง (จำนวน)		เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ (ไอโซเลต)		
		แปลง ปลูก	Rhizosphere	แปลงปลูก	Rhizosphere	รวม
1	ต.บ้านแหอ อ.ธารโต จ.ยะลา	3	3	32	17	49
2	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	2	2	10	7	17
3	ต. สะเตงนอก อ.เมือง จ.ยะลา	1	1	6	5	11
4	ต.เวียง อ.เวียง จ.นราธิวาส	2	2	6	0	6
5	ต.สุคิริน อ.สุคิริน จ.นราธิวาส	2	2	12	2	14
	รวม	10	10	66	31	97

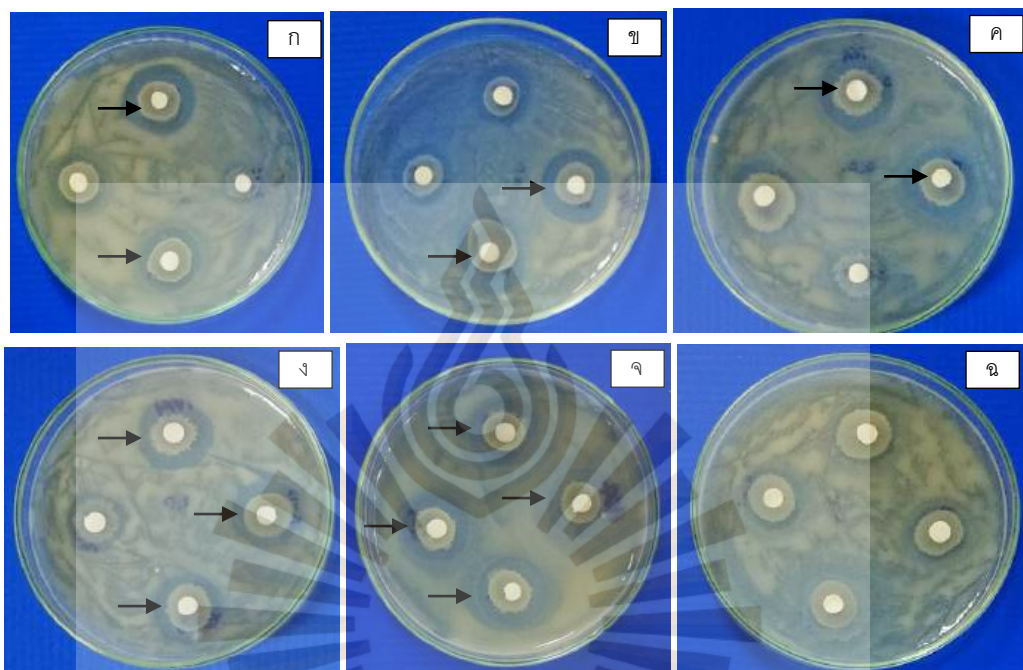


รูปที่ 4.4 แปลงคหาผลาที่เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ (ก) อำเภอเว้ง
จังหวัดนราธิวาส (ข,ค) อำเภอราร โต จังหวัดยะลา

4.2 ผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการ

จากการรวบรวมเก็บตัวอย่างและสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ โดยวิธี Heat Treatment Method เพื่อคัดแยกเอาเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างเอนโคสปอร์ได้จำนวน 97 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนโคสปอร์ จะทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความเครียด อากาศร้อนหรือเย็นจัด รังสี การขาดแคลนอาหาร เป็นต้น (McKenney, Driks, & Eichenberger, 2013) และเมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* Smith โดยวิธี Paper Disc Diffusion ในห้องปฏิบัติการ และทำการเลือกไอโซเลทที่เกิดวงใส (Clear Zone) กว้าง และชัดเจน พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณจำนวน 33 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเกิด

เชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้มากกว่าหรือเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการคัดเลือกและนำไปทดสอบเพื่อยืนยันประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ต่อไป และมีไอโซเลตที่ไม่เกิดการยับยั้ง และเกิด Clear Zone น้อย จำนวน 64 ไอโซเลต ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.5 ลักษณะการเกิดความกว้างของบริเวณใส (Clear Zone/ลูกศรชี้) แสดงการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* Smith ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณท์ ด้วยวิธี Paper Disc Diffusion Method โดยไอโซเลตที่มีลูกศรชี้จะนำไปทดสอบในการยืนยันผลต่อไป

4.3 ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณท์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* Smith ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณท์ จำนวน 97 ไอโซเลต ด้วยวิธี Paper Disc Diffusion Method เพื่อคัดเลือกไอโซเลตที่เกิด Clear Zone กว้าง ชัดเจน และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้มากกว่าหรือเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 33 ไอโซเลต เมื่อนำไอโซเลตดังกล่าวมาทดสอบเพื่อยืนยันการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* Smith โดยวิธี Paper Disc Diffusion อีกครั้ง พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณท์จำนวน 5 ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพการยับยั้ง *R. solanacearum* Smith สูงสุด คือ MGYL-1, TTYL-14, BTYL-5, TTYL-18 และ BTYL-4 มีความกว้างของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) เท่ากับ 59.83, 53.83, 50.83, 51.00 และ 50.83

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 4.3 จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏทั้ง 5 ไอโซเลทไปทดสอบในโรงเรือนต่อไป

ตารางที่ 4.3 แสดงแหล่งเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏ ไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหาร NA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏด้วยวิธี disc diffusion method

ลำดับที่	แหล่งเก็บตัวอย่าง	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
1	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-5	40.00
2	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-6	44.50
3	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-8	30.83
4	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-10	49.00
5	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-11	48.33
6	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-12	45.50
7	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-13	31.17
8	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-14	53.83*
9	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-15	43.00
10	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-18	50.83*
11	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-19	31.00
12	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-23	31.67
13	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-24	36.67
14	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-30	39.17
15	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-33	33.33
16	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-36	35.00
17	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-38	30.00
18	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-43	45.00
19	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-44	35.00
20	ด.บ้านแห อ.ธารโต จ.ยะลา	TTYL-47	35.00

ตารางที่ 4.3 แสดงแหล่งเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหาร NA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี Disc Diffusion Method (ต่อ)

ลำดับที่	แหล่งเก็บตัวอย่าง	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
21	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-1	32.50
22	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-4	50.83*
23	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-5	51.00*
24	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-7	47.50
25	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-11	33.33
26	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-12	30.00
27	ต.บันนังสตา อ.บันนังสตา จ.ยะลา	BTYL-15	33.33
28	ต. สะเตงนอก อ.เมือง จ.ยะลา	MGYL-1	59.83*
29	ต. สะเตงนอก อ.เมือง จ.ยะลา	MGYL-5	36.67
30	ต. สะเตงนอก อ.เมือง จ.ยะลา	MGYL-9	30.00
31	ต. สะเตงนอก อ.เมือง จ.ยะลา	MGYL-10	32.50
32	ต.สุคีริน อ.สุคีริน จ.นราธิวาส	SKNR - 6	30.00
33	ต.สุคีริน อ.สุคีริน จ.นราธิวาส	SKNR-12	35.00

เครื่องหมาย * หมายถึง ไอโซเลทที่คัดเลือกลงไปทดสอบในการทดลองต่อไป

4.4 ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคอื่น

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เชื้อ *Corynespora cassiicola* เชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และเชื้อ *Fusarium oxysporum* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อ *Corynespora cassiicola* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดก้านปลา โดยมีพืชอาศัย เช่น ถั่วเขียว มะละกอ ขางพารา งา ถั่วเหลือง ฝ้าย ยาสูบ กล้าย แตงโม แตงกวา มะเขือเทศ พริก มะเขือ กะเพรา โหระพา กานพลู พริกไทย ตำลึง เป็นต้น จากการทดสอบพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 2-4 (TTYL-18, BTYL-5, BTYL-4) สามารถ

ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Corynespora cassiicola* ส่วนไอโซเลทที่ 1 (TTYL-14) เกิด Clear Zone น้อย และไอโซเลทที่ 5 (MGYL-1) ไม่เกิด Clear Zone แสดงว่าทั้งสองไอโซเลทไม่สามารถหรือสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุก่างปลาได้น้อยมาก ดังภาพที่ 4.5 (ก)

เชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* เชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสมีพืชอาศัยค่อนข้างมาก ได้แก่ มะม่วง พริก มะม่วง แก้วมังกร กาแฟ องุ่น สตรอเบอร์รี่ กล้วย มันสำปะหลัง หอม มะนาว ส้มโอ มันฝรั่ง เป็นต้น จากการทดสอบพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 2-4 (TTYL-18, BTYL-5, BTYL-4) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ เพราะเกิด Clear Zone กว้าง แต่ในไอโซเลทที่ 1 และ 5 (TTYL-14, MGYL-1) ไม่เกิด Clear zone แสดงว่าเชื้อปฏิปักษ์ไอโซเลท TTYL-14 และ MGYL-1 ไม่มีการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ดังภาพที่ 4.5 (ข) และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่อาศัยในดิน และเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชหลายชนิด เช่น กล้วย ส้ม ข้าวโพด พริก แตงโม ฝ้าย กวางตุ้ง กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กระบี่ ผักกาดขาวปลี มะเขือเทศ บร็อคโคลี่ ผักกาดเขียว ผักกาดหัว เป็นต้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 3, 4 (BTYL-5, BTYL-4) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ได้ดี ส่วนไอโซเลทที่ 2 (TTYL-18) เกิด Clear Zone น้อย แสดงว่ายับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแต่ไม่ดี แต่ไอโซเลทที่ 1 และ 5 (TTYL-14, MGYL-1) ไม่เกิด Clear Zone และเชื้อสาเหตุโรคเจริญเติบโตได้ดี แสดงว่าไอโซเลท TTYL-14 และ MGYL-1 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวได้ ดังภาพที่ 4.5 (ค)

จากการทดสอบพบว่าไอโซเลท BTYL-5 และ BTYL-4 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium oxysporum* ได้เป็นอย่างดี รองลงมาคือ ไอโซเลท TTYL-18 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Corynespora cassiicola* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดี แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ได้เล็กน้อยเท่านั้น ส่วนไอโซเลท TTYL-14 และ MGYL-1 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 เชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Romeiro, Filho, Macagnan, Garcia, and Silva (2022) และ Tan, Lin, and Zhang (2013) ได้คัดเลือกเชื้อ *Bacillus cereus* ไอโซเลท UFV-101 กระตุ้นให้เกิดความต้านทานของมะเขือเทศต่อเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv., *Xanthomonas vesicatoria*, *Alternaria solani* และ *Corynespora cassiicola* เช่นเดียวกับเชื้อ *Bacillus subtilis* B25 ที่แยกจากดินเหี่ยวกล้วย มีประสิทธิภาพสูงในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับ *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense, *Corynespora cassiicola*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* และ *Colletotrichum gloeosporioides*

นอกจากนี้ ยังได้มีการทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท กับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma asperellum* ผลปรากฏว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลท และเชื้อรา *T. asperellum* ไม่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตซึ่งกันและกัน แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้เชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองกลุ่มนี้ร่วมกันในการป้องกันกำจัดเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kipngeno, Losenge, Maina, Kahangi, and Juma (2015) ได้ศึกษาการนำเชื้อ *B. subtilis* และเชื้อรา *T. asperellum* มาเคลือบเมล็ดมะเขือเทศในเคนยา เพื่อป้องกันการเข้าทำลาย (infection) จากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในโรงเรือนทดลอง พบว่า *B. subtilis* และ *T. asperellum* ที่ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml. มีเมล็ดงอก 20.19 และ 24.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ การทดสอบนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ ควรนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบเพื่อยืนยันผลการทดสอบอีกครั้งในระดับโรงเรือน และสภาพไร่นา



รูปที่ 4.6 แสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ TTYL-14 (E_1), TTYL-18 (E_2), BTYL-5 (E_3), BTYL-4 (E_4) และ MGYL-1 (E_5) สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค (ก) เชื้อรา *Corynespora cassiicola* (ข) เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (ค) เชื้อรา *Fusarium oxysporum*

4.5 ผลการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S Ribosomal RNA (16S rRNA)

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว จำนวน 2 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 ไอโซเลท มาจำแนกด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA โดยใช้ไพรเมอร์ 27F และ 1492R จากนั้นนำผลผลิต PCR มาแยกบน 1.5 เปอร์เซ็นต์ Agarose Gel Electrophoresis ย้อมเจลด้วยสารละลาย Ethidium Bromide (ความเข้มข้น 0.5) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV Transilluminators เปรียบเทียบขนาดของ

แถบดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb DNA Ladder Marker (Fermentas) สามารถตรวจพบชิ้นยีนที่มีขนาดประมาณ 1490 bp เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA เพื่อจำแนกชนิดเชื้อด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ยีนจากฐานข้อมูล GenBank โดยโปรแกรม BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว ไอโซเลท RSYL-1 มีความเหมือนของยีนบริเวณ 16S rRNA gene คล้ายคลึงกับ *Ralstonia solanacearum* strain HN4B (99.79%) และไอโซเลท RSYL-2 มีความเหมือนของยีนบริเวณ 16S rRNA gene คล้ายคลึงกับ *Ralstonia solanacearum* YS-Y (99.86%)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 ไอโซเลท จำแนกชนิดเชื้อและนำมาวิเคราะห์หาความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ดังนี้ ไอโซเลท TTYL-14, TTYL-18, BTYL-5 และ BTYL-4 มีความเหมือนของยีนบริเวณ 16S rRNA gene คล้ายคลึงกับ *Bacillus subtilis* Bobby2007 (99.58%), *Bacillus subtilis* strain BSFT-39 (99.86%), *Bacillus subtilis* HCM8-3 (98.71%) และ *Bacillus amyloliquefaciens* strain HJ1 (96.99%) ตามลำดับ สำหรับไอโซเลท MGYL-1 มีความเหมือนของยีนบริเวณ 16S rRNA gene คล้ายคลึงกับ *Bacillus altitudinis* strain MSL_3055 (98.51%) ดังตารางที่ 4.4

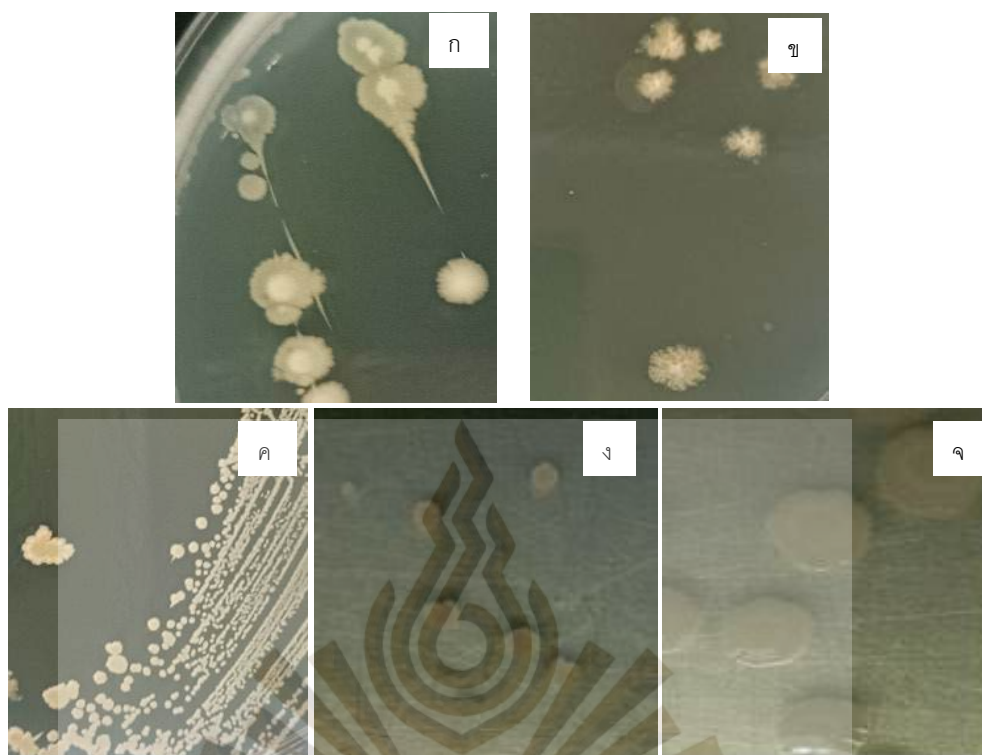
เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลทมาจำแนกลักษณะโคโลนีในเบื้องต้นพบว่า TTYL-14 มีรูปร่างโคโลนีไม่แน่นอน ตรงกลางโคโลนีนูนขึ้นเล็กน้อย (Raised) ขอบหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย (Undulate) ขนาดโคโลนีใหญ่ปานกลาง มีสีขาว และโปร่งแสง (Translucent) ตามรูปที่ 4.6 (ก) เช่นเดียวกับ TTYL-18 มีโคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน ตรงกลางโคโลนีนูนขึ้นเล็กน้อย (Raised) พื้นผิวโคโลนีขรุขระ ขอบหยักเป็นคลื่น (Undulate) ขนาดโคโลนีใหญ่ปานกลาง มีสีขาว และโปร่งแสง (Translucent) ตามรูปที่ 4.6 (ข) ส่วน BTYL-5 โคโลนีพบว่า รูปร่างไม่แน่นอน ตรงกลางโคโลนีนูนขึ้นเล็กน้อย (Raised) ขอบหยักเป็นคลื่น (Undulate) ขนาดโคโลนีใหญ่ปานกลาง มีสีขาว และทึบแสง (Opaque) ตามรูปที่ 4.6 (ค) และ BTYL-4 เมื่อตรวจสอบลักษณะโคโลนีพบว่า รูปร่างไม่แน่นอน โคโลนีแบน (Flat) และหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย (Undulate) ขนาดโคโลนีใหญ่ปานกลาง มีสีขาว และโปร่งแสง (Translucent) ตามรูปที่ 4.6 (ง) สำหรับ MGYL-1 เมื่อตรวจสอบลักษณะโคโลนีพบว่า รูปร่างกลม (Circular) ตรงกลางโคโลนีนูนขึ้นเล็กน้อย (Raised) พื้นผิวโคโลนีมันวาว ขอบหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย (Undulate) ขนาดโคโลนีใหญ่ปานกลาง มีสีขาว และโปร่งแสง (Translucent) ตามรูปที่ 4.6 (จ) ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.4 ผลการจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยเปรียบเทียบความเหมือนของยีนส่วน 16S rRNA กับเชื้อแบคทีเรียในฐานข้อมูล NCBI database

Isolate	Gene similarity in NCBI database	% of identify	Identified bacteria	Accession number
RSYL-1	<i>Ralstonia solanacearum</i> strain HN4B 16S ribosomal RNA gene	99.79	<i>Ralstonia solanacearum</i>	MN508417.1
RSYL-2	<i>Ralstonia solanacearum</i> strain YS-Y 16S ribosomal RNA gene	99.86	<i>Ralstonia solanacearum</i>	MN508408.1
TTYL-14	<i>Bacillus subtilis</i> strain Bobby 2007 16S ribosomal RNA gene	99.58	<i>Bacillus subtilis</i>	EF563825.1
TTYL-18	<i>Bacillus subtilis</i> strain BSFT-39 16S ribosomal RNA gene	99.86	<i>Bacillus subtilis</i>	MN945444.1
BTYL-5	<i>Bacillus subtilis</i> HCM8-3 gene for 16S rRNA	98.71	<i>Bacillus subtilis</i>	LC543400.1
BTYL-4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain HJ1 16S ribosomal RNA gene	94.05	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	MT678828.1
MGYL-1	<i>Bacillus altitudinis</i> strain MSL_ 3055 16S ribosomal RNA gene	98.51	<i>Bacillus altitudinis</i>	KT719885.1

ตารางที่ 4.5 สรุปลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับการคัดเลือกสำหรับการทดลองต่อไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA

ลักษณะ	ไอโซเลต				
	TTYL-14	TTYL-18	BTYL-5	BTYL-4	MGYL-1
Colony Shape	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular	Circular
Elevation	Raised	Raised	Crateriform	Flat	Raised
Margin	Undulate	Undulate	Undulate	Undulate	Undulate
Size	Medium	Medium	Medium	Medium	Medium
Colour	White	White	White	White	White
Opacity	Translucent	Translucent	Opaque	Translucent	Translucent



รูปที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนาอาหารเลี้ยงเชื้อ NA 48 ชั่วโมง

(ก) TTYL-14 (ข) TTYL-18 (ค) BTYL-5 (ง) BTYL-4 (จ) MGYL-1

4.6 ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนาในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

หลังเพาะเมล็ดมะเขือเทศเป็นเวลา 30 วัน เพื่อตรวจสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนาในการควบคุมโรคเหี่ยวในระดับห้องทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีต้นมะเขือเทศตาย และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนาค่าดัชนีความรุนแรงของโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกมะเขือเทศในดินผสม *R. solanacearum* Smith โดยไม่ใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนา มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นมะเขือเทศมีลักษณะแคะแกร็น ใบเหี่ยว ลำต้น ใบมีสีเหลือง และยอดเหี่ยว

กรรมวิธีที่ 1 ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลูกด้วยเมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (TTYL-14) หลังจากเพาะเมล็ด 30 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศสามารถงอกได้ ลำต้นและใบมีลักษณะปกติ สีเขียว

สามารถเจริญเติบโตได้ดี คะแนนการเกิดโรคและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคมิค่าเป็นศูนย์ ดังรูปที่ 4.8 (ก)

กรรมวิธีที่ 2 ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลุกด้วยเมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (TTYL-18) หลังจากเพาะเมล็ด 30 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศสามารถงอกได้ดี ลำต้นและใบมีลักษณะปกติ สีเขียว สามารถเจริญเติบโตได้ดี คะแนนการเกิดโรคและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคมิค่าเป็นศูนย์ ดังรูปที่ 4.8 (ข)

กรรมวิธีที่ 3 ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลุกด้วยเมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (BTYL-5) หลังจากเพาะเมล็ด 30 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศสามารถงอกได้ดี ลำต้นและใบมีลักษณะปกติ สีเขียว สามารถเจริญเติบโตได้ดี คะแนนการเกิดโรคและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคมิค่าเป็นศูนย์ ดังรูปที่ 4.8 (ค)

กรรมวิธีที่ 4 ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลุกด้วยเมล็ดคลุกเชื้อ *B. amyloliquefaciens* (BTYL-4) หลังจากเพาะเมล็ด 30 วัน พบว่ามีต้นมะเขือเทศบางต้นเริ่มแสดงอาการใบเหี่ยว 1 ใบต่อต้น แต่ต้นมีขนาดใหญ่กว่ากรรมวิธีควบคุม ดังรูปที่ 4.8 (ง) คะแนนการเกิดโรค 0.89 และค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 14.61 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลุกด้วยเมล็ดคลุกเชื้อ *B. altitudinis* (MGYL-1) หลังจากเพาะเมล็ด 30 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศมีการแสดงอาการของโรคเหี่ยว คือ บางต้นเริ่มมีใบเหี่ยวและรากงอกที่ลำต้น ดังรูปที่ 4.8 (จ) ซึ่งเป็นอาการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากรายงานของ EPPO (2004) คะแนนการเกิดโรค 1.56 และค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 29.22 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 (กรรมวิธีควบคุม) ดินผสม *R. solanacearum* Smith ปลุกด้วยเมล็ดไม่คลุกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ หลังจากเพาะเมล็ดมะเขือเทศ 30 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศมีลักษณะแคระแกร็น ใบห่อ ลำต้นและใบมีสีเหลือง ขอดเหี่ยว ดังรูปที่ 4.8 (ฉ) คะแนนการเกิดโรค 3.00 และค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์

การทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของอรุณี แท่งทอง, ดิยากร ฉัตรนภารัตน์, ปริญญา จุลกะ, และสุพจน์ กาเข้ม (2565) ได้ทดสอบหุบกมะเขือเทศก่อนปลูก และรดดินซ้ำทุก 7 วัน ด้วยเซลล์แขวนลอย *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ K3 พบว่าภายหลังกายมะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่มีเชื้อสาเหตุโรคววันที่ 7 และ 14 สามารถลดความรุนแรงและลดอัตราการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้ 49.9 และ 27.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเช่นเดียวกับ Kwon and Kim (2014) ได้ทดลองแช่เมล็ดพริกไทย และมะเขือเทศก่อนปลูกและรดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

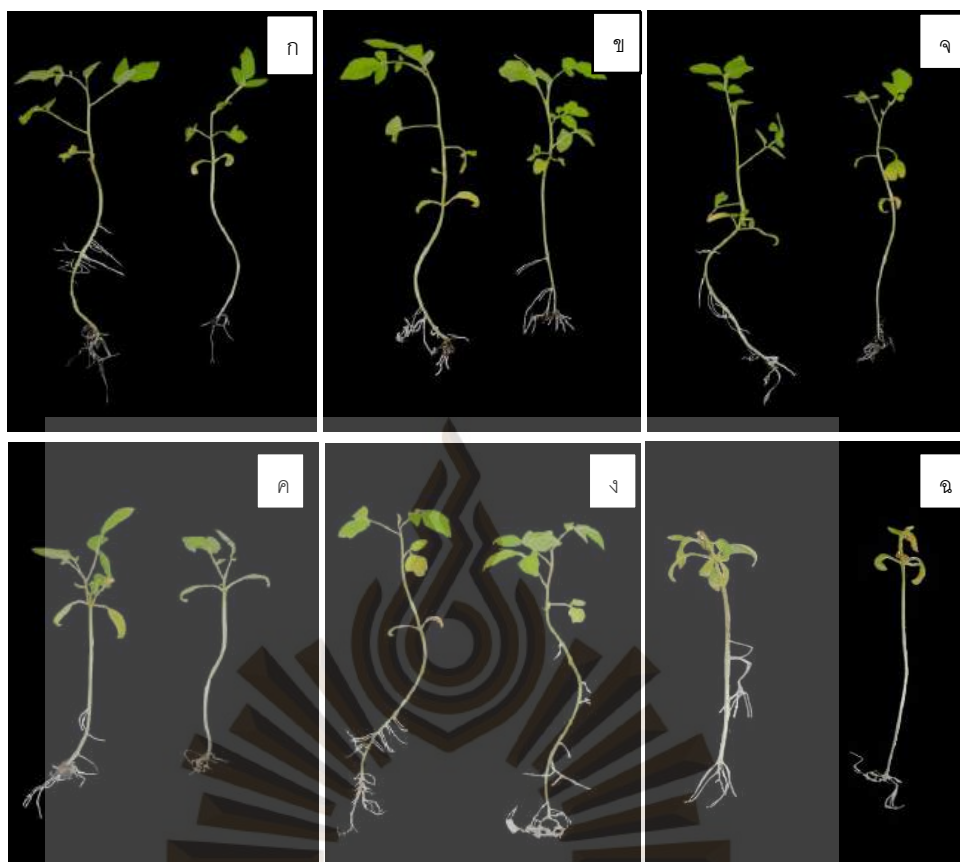
B. subtilis JW-1 ที่แยกได้จากดินไรโซสเฟียร์ของแปลงปลูกพริกไทย พบว่าสามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* Smith สาเหตุโรคเหี่ยวลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับที่อยู่ในการควบคุมที่ไม่ผ่านการบำบัดภายใต้โรงเรือน

ตารางที่ 4.6 คะแนนการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. Solanacearum* Smith ของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธีการทดลอง	คะแนนการเกิดโรค	ดัชนีความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์)
1. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ <i>B. subtilis</i> (TTYL-14)	0	0 ^a
2. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ <i>B. subtilis</i> (TTYL-18)	0	0 ^a
3. ดินผสม <i>R. Solanacearum</i> Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ <i>B. subtilis</i> (BTYL -5)	0	0 ^a
4. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ <i>B. amyloliquefaciens</i> (BTYL-4)	0.89	14.61 ^b
5. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ <i>B. altitudinis</i> (MGYL -1)	1.56	29.22 ^c
6. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + เมล็ดไม่คลุกเชื้อปฏิปักษ์ (กรรมวิธีควบคุม)	3	60 ^d

ตัวอักษร^{abcd} ที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

$P \leq 0.05$ โดยวิธี DMRT



รูปที่ 4.8 แสดงอาการของต้นมะเขือเทศหลังเพาะเมล็ด 30 วัน ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (TTYL-14)
- (ข) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (TTYL-18)
- (ค) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ *B. subtilis* (BTYL-5)
- (ง) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ *B. amyloliquefaciens* (BTYL-4)
- (จ) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดคลุกเชื้อ *B. altitudinis* (MGYL-1)
- (ฉ) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + เมล็ดไม่คลุกเชื้อปฏิบัติ (กรรมวิธีควบคุม)

4.7 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียเชื้อปฏิบัติในการควบคุมโรคเหี่ยวดาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง

จากการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียเชื้อปฏิบัติในการควบคุมโรคเหี่ยวดาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่าสัปดาห์ที่ 3 ภายหลังจากปลูกถ่ายเชื้อ *R. solanacearum* Smith ลงในต้นดาหลา ทุกกรรมวิธีต้นดาหลามีการแสดงอาการของโรคเหี่ยว คือ ยอดเริ่มแสดงอาการใบม้วน

และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ ตรวจสอบและนำข้อมูลวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าทุกกรรมวิธีมีการผสมเชื้อ ปฏิกิริยาลงในดินมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยกว่า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ กรรมวิธีควบคุม

กรรมวิธีที่ 1 ดินผสม *R. solanacearum* Smith และ *B. subtilis* (TTYL-14) ภายหลังการ ทดลอง 3 สัปดาห์ พบว่าต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง เริ่มมีอาการใบม้วน แสดงถึงการขาดน้ำ ต่อมา สีใบและลำต้นเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองและเหี่ยว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ทำการตรวจสอบ พบว่า มีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.50 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 43.33 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 ดินผสม *R. solanacearum* Smith และ *B. subtilis* (TTYL-18) ภายหลังการ ทดลอง 3 สัปดาห์ พบว่าต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง เริ่มมีใบม้วน และเหี่ยว แสดงอาการขาดน้ำ ต่อมา ลำต้นและใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง จนถึงสีน้ำตาลและเหี่ยว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ทำการ ตรวจสอบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.50 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 ดินผสม *R. solanacearum* Smith และ *B. subtilis* (BTYL-5) ภายหลังการ ทดลอง 3 สัปดาห์ พบว่าต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง เริ่มมีอาการใบม้วนมากกว่า 2 ใบ แสดงถึง การขาดน้ำ ต่อมาสีใบเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองและเหี่ยว แต่ลำต้นยังมีสีเขียว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ทำการตรวจสอบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.33 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย เท่ากับ 43.33 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 ดินผสม *R. solanacearum* Smith และ *B. amyloliquefaciens* (BTYL-4) ภายหลังการทดลอง 3 สัปดาห์ พบว่าต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง เริ่มมีอาการใบม้วน แสดงอาการ ขาดน้ำ ต่อมาลำต้นและใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง จนถึงสีน้ำตาลและเหี่ยว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ทำการตรวจสอบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.67 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย เท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 ดินผสม *R. solanacearum* Smith และ *B. altitudinis* (MGYL-1) ภายหลังการ ทดลอง 3 สัปดาห์ พบว่าต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง เริ่มมีอาการยอดใบม้วน และใบเริ่มเหี่ยวดูลง มากกว่า 2 ใบขึ้นไปแสดงอาการขาดน้ำ ต่อมาลำต้นและใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เมื่อครบ 4 สัปดาห์ทำการตรวจสอบ พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.33 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย เท่ากับ 43.33 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 (กรรมวิธีควบคุม) ดินผสม *R. solanacearum* Smith ภายหลังการทดลอง 2 สัปดาห์ ต้นดาหลาที่ใช้ในการทดลอง ใบม้วน แสดงอาการขาดน้ำ และสัปดาห์ที่ 3 ใบม้วนหรือ

เหี่ยวทั้งต้น ใบและลำต้นเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองถึงน้ำตาล เมื่อครบ 4 สัปดาห์ทำการตรวจผล พบว่ามีคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 4.00 และมีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวคาหลา ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ 1-5 เชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* *B. amyloliquefaciens* *B. altitudinis* สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* Smith ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1-5 ที่ใส่เชื้อปฏิปักษ์ พบว่ามีดัชนีความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 43.33-46.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของณัฐจิมา โหมยิตเจริญกุล, รัชมิ ฐิติเกียรติพงศ์, และบุษราคัม อุดมศักดิ์ (2551) พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่แยกจากดินรากยาสูบสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในงิงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถควบคุมการระบาดในแปลงทดลองโรคเหี่ยวของงิงได้ 62-65 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ มีการทดสอบใช้การจัดการดินร่วมด้วยโดยใช้ยูเรีย:ปูนขาว อัตรา 80:800 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ 4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในปทุมมาได้ดี โดยเกิดโรคเหี่ยวเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (ณัฐจิมา โหมยิตเจริญกุล และคณะ, 2557) ตลอดจนมีการพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของงิง และพืชอาศัยอื่นๆที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith

ตารางที่ 4.7 คะแนนการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคเหี่ยวดาหลาในสภาพโรงเรือนทดลอง ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง

กรรมวิธีการทดลอง	คะแนนการเกิดโรค	ดัชนีความรุนแรงของโรค (เปอร์เซ็นต์)
1.ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL-14)	2.50 ^a	43.33 ^a
2.ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (TTYL-18)	2.50 ^a	46.67 ^a
3.ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. subtilis</i> (BTYL-5)	2.33 ^a	43.33 ^a
4. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. amyloliquefaciens</i> (BTYL-4)	2.67 ^a	46.67 ^a
5. ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith + <i>B. altitudinis</i> (MGYL-1)	2.33 ^a	43.33 ^a
6 ดินผสม <i>R. solanacearum</i> Smith (กรรมวิธีควบคุม)	4 ^b	80 ^b

ตัวอักษร ^{ab} ที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 $P \leq 0.05$ โดยวิธี DMRT



รูปที่ 4.9 แสดงอาการของต้นคาหลา หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว 4 สัปดาห์

- (ก) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + *B. subtilis* (TTYL-14)
- (ข) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + *B. subtilis* (TTYL-18)
- (ค) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + *B. subtilis* (BTYL-5)
- (ง) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + *B. amyloliquefaciens* (BTYL-4)
- (จ) ดินผสม *R. solanacearum* Smith + *B. altitudinis* (MGYL-1)
- (ฉ) ดินผสม *R. solanacearum* Smith (กรรมวิธีควบคุม)

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ทำการคัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวมีสาเหตุมาจากเชื้อ *R. solanacearum* Smith ของคาหลาจากตัวอย่างดินแปลงปลูกคาหลาในพื้นที่จังหวัดยะลา และนราธิวาส จำนวน 5 แหล่ง โดยวิธี Heat Treatment Method สามารถจำแนกทั้งหมด 97 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ไปคัดเลือก และทดสอบด้วยวิธี Paper Disc Diffusion Method และเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวได้มากที่สุด 5 ไอโซเลท คือ TTYL-14, TTYL-18, BTYL-5, BTYL-4 และ MGYL-1 จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณยีน 16S rRNA เพื่อจำแนกชนิดเชื้อ และนำมาวิเคราะห์หาความเหมือนและความต่างของยีนที่แยกได้ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ยีนจากฐานข้อมูล GenBank โปรแกรม BLASTN พบว่าไอโซเลทมีความเหมือนของยีนบริเวณ 16S rRNA gene ของ *Bacillus subtilis* Bobby 2007, *Bacillus subtilis* BSFT-39, *Bacillus subtilis* HCM8-3, *Bacillus amyloliquefaciens* HJ1 และ *Bacillus altitudinis* MSL_3055 ตามลำดับ นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบความสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพืชในห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะเมล็ดมะเขือเทศในวัสดุปลูกที่มีเชื้อ *R. solanacearum* Smith และรดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยว และต้นมะเขือเทศมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่ไม่มีการรดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ กรรมวิธีที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีดัชนีการเกิดโรค 0-1.56 คะแนน และดัชนีความรุนแรงของโรค 0-29.22 เปอร์เซ็นต์ ต่อมนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของคาหลาในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสัปดาห์ที่สามหลังการปลูกเชื้อ ต้นคาหลาเริ่มแสดงอาการเหี่ยวในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบเชื้อปฏิปักษ์ แต่กรรมวิธีที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีดัชนีการเกิดโรค 2.33-2.67 คะแนน และดัชนีความรุนแรงของโรค 43.33-46.67 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถลดการเกิดโรคนี้ได้ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola* และ *Fusarium oxysporum* ในระดับห้องปฏิบัติการได้ด้วย โดยไอโซเลท TTYL-18, BTYL-5 และ BTYL-4 เกิด clear zone ซึ่งแสดงถึง

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค ทั้งนี้ ควรนำไปทดสอบเพิ่มเติมอีกครั้ง เพื่อยืนยันความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุโรค และมีการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma asperellum* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถเจริญเติบโตร่วมกันได้ เพื่อนำไปสู่การทดสอบควบคุมโรคร่วมกันในภาคสนามต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยนี้ทำให้ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในคาหลาด้วยชีวิธี โดยได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนโดสปอร์ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ เพราะสามารถทนทาน และมีชีวิตรอดอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทำให้มีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน โดยเอนโดสปอร์ทำให้ชีวภัณฑ์นั้น มีอายุการเก็บรักษา (Shelf Life) ยาวนาน และไม่ต้องนำมาใส่บ่อยครั้ง แต่ควรศึกษาเรื่องระยะเวลาการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียในสภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งนี้ ควรต้องศึกษาปริมาณเชื้อระยะเวลาและความถี่ในการใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพิ่มเติม และควรทดสอบในแปลงปลูก เพื่อให้ทราบถึงปัญหา และข้อจำกัดในการใช้ป้องกันกำจัด และควบคุมโรคเหี่ยวต่อไป

ในทางปฏิบัติการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้ป้องกัน กำจัด และควบคุมโรคเหี่ยวจากการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค *R. solanacearum* Smith ควรใช้วิธีเขตรกรรมร่วมด้วย ซึ่งการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้ ควรใช้ให้บ่อยครั้ง และมีหลายกรรมวิธี ได้แก่ การรองก้นหลุมก่อนปลูกคาหลา การคลุกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับท่อนพันธุ์คาหลา การรดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในทุกกระยะการเจริญเติบโตของคาหลา ตลอดจนต้องหมั่นตรวจสอบแปลงไม่ให้น้ำขัง รวมถึงการจัดการดินก่อนปลูกให้มีความเหมาะสม เช่น การอบดิน การปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินด้วยปูนขาว หรือโดโลไมต์ เป็นต้น ซึ่งการใช้กรรมวิธีที่หลากหลายจะช่วยให้การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวในคาหลามีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

บรรณานุกรม

- จันทร์หา อูปลี, และอรอุมา เรืองวงษ์. (2561). การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคต้นแตงกวางไหลของเมลอน. *วารสารเกษตร*, 34(2), 179-191.
- จิระเดช แจ่มสว่าง. (2546). *การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี*. นครปฐม: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- ณัฐจิรา โหมยิตเจริญกุล, เขียวภา ดันติวานิช, วิภาดา ทองทักษิณ, และสุธามาศ ณ น่าน. (2549). *การจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Ralstonia solanacearum*. สืบค้นจาก <https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=1914>
- ณัฐจิรา โหมยิตเจริญกุล, วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์, และทัศนาวพร ทศคร. (2547). *รายงานผลการวิจัยเรื่อง การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ Bacillus spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของชิงและมะเขือเทศ*. กรุงเทพฯ: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ณัฐจิรา โหมยิตเจริญกุล, บุรณี พัววงษ์แพทย์, ทิพวรรณ กันหาญาติ, และรุ่งนภา ทองเครื่อง. (2557). *การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย Bacillus subtilis สายพันธุ์ BS-DOA 24 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของชิงที่เกิดจากเชื้อ Ralstonia solanacearum*. *วารสารวิชาการเกษตร*, 32(3), 234-251.
- ณัฐจิรา โหมยิตเจริญกุล, รัชมี จิตติเกียรติพงศ์, และบุษราคัม อุดมศักดิ์. (2551). *รายงานผลการวิจัยเรื่อง พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย Bacillus subtilis ควบคุมโรคเหี่ยวในชิง*. กรุงเทพฯ: กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ณัฐพงษ์ แกมทับทิม, และศิริชัย เทพา. (2562). *การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Ralstonia solanacearum ในดินเพาะปลูกด้วยการปล่อยความร้อนจากท่อแนวตั้ง*. *วารสารวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา*, 4(1), 34-42.
- ดวงพร คันทโชติ. (2537). *อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและบทปฏิบัติการ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- ตันติมา คำลั้ง. (2540). *การเตรียมแอนติเซรัมของเชื้อ Pseudomonas solanacearum ที่แยกจากชิง*. นครปฐม : ภาควิชาโรคพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ทวินันท์ บางขาม, และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2564). *การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วย*. *วารสารแก่นเกษตร*, 9(6), 1502 -1514.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- นนทกร จันทร์แสง. (2561). รายงานผลงานวิจัยเรื่อง การทดสอบพันธุ์ดาหลาลูกผสมในแหล่งปลูกต่าง ๆ. ยะลา: ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.
- นาคยา คำอำไพ, และสุทธาชีพ สุกเสตร. (2556). รายงานผลงานวิจัยเรื่อง การคัดเลือกพันธุ์ดาหลาที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์. ตรัง: ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.
- ปิ่นณวิษญ์ เย็นจิตต์, ธิดา เดชฮวบ, และวาริน อินทนา. (2560). การประยุกต์ใช้ร่วมกันของผงเชื้อ *Trichoderma sp.* และ *Bacillus sp.* ต่อการควบคุมโรคเมล็ดด่างที่เกิดจาก *Bipolaris oryzae* ในนาข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49(1), 15-26.
- ปิยรัตน์ นามเสนา. (2561). รายงานการวิจัยเรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus spp.* จากดินที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคพืชในป่าชุมชน ตำบลหนองปลิง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม. มหาสารคาม: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
- ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล, วชิรญาณ์ ดวงตะ, มณีกัร ตรีกิตราครบุรี, และสมบัติ ศรีชูวงศ์. (2564) ศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของ *Streptomyces spp.* และ *Bacillus subtilis* ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. แก่นเกษตร, 49(3), 656-667.
- ประจวบ บุตรศาสตร์, นิพนธ์ ทวีชัย, ชวลิต สงประยูร, และวิชัย โฆสิตรัตน์. (2548). กลไกและการใช้เชื้อแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43: สาขาพืช (น. 240-247). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- พัชรวิภา ใจจักรคำ, อนงค์นุช สาสนรักกิจ, วีระณีย์ ทองศรี, สุพจน์ กาเข้ม, ธิดา เดชฮวบ, ปวีณา สงกุมาร, ... ดิยากร ฉัตรนารัตน์. (2561). หลักการควบคุมโรคพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรนิภา ถาน, และอังสนา อัครพิศาล. (2561). การพัฒนาชีวภัณฑ์จาก *Bacillus amyloliquefacien* เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 49 (พิเศษ)(1), 650-652.
- พรศิลป์ สีเผือก, ชัยสิทธิ์ ปรีชา, และวุฒิชัย สีเผือก. (2561). รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาความหลากหลายของเชื้อราในนาข้าว และการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคข้าวโดยชีววิธี. นครศรีธรรมราช: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- เทอดพันธ์ ธรรมรัตน์พงษ์, ภัสชญณ หมื่นแจ้ง, อชลิ นามวงษ์, และสุจิตรา สุวรรณคดี. (2564). การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Tropical Race 4 (Foc TR4) สาเหตุโรครตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช. วารสารวิชาการเกษตร, 39(2), 168–176.
- ธิตินา วงษ์ชีรี. (2543). รายงานผลงานวิจัยเรื่อง ผลของการจัดการดินเพื่อลดการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* ในดินและการเกิดโรคเหี่ยวของพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- วารุณี คงดวล, น้ำทิพย์ พิรณฤทธิ, ชลิดา เล็กสมบุรณ์, และอรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. (2557). ศึกษาลักษณะทางอนุชีวโมเลกุลของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทยในระดับ Division และ Phylotype. ใน การประชุมวิชาการแห่งชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 11 (น. 120-127). นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เวียงคำ จันทวงศ์, อนันต์ หิรัญสาดี, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2550). ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ. เกษตร, 35(3), 364-374.
- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฐจิมา โนษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ ธรรมกิตติรัตน์, และรุ่งนภา คงสุวรรณ. (2549). การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* สาเหตุโรคเหี่ยวมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg. วารสารวิชาการเกษตร, 42(1), 178-197.
- ศศิธร จันทรโอทาน. (2525). การศึกษาโรคเหี่ยวหรือแฉ่งเน่าของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย (Unpublished Master's thesis). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยพืชสวน. (2556). ดาหลาพันธุ์ดั่ง 1-5. พืชสวนพันธุ์ดี กรมวิชาการเกษตร (เล่ม3). กรุงเทพฯ: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 4, 108-123.
- สุนิตรา คามีสักดิ์. (2559). การป้องกันโรคเหี่ยวเน่าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ของไพล. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3(ฉบับพิเศษ)(III), 157-160.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- สุพัฒนา จันทา, และนฤมล พินเนียม ชนะไพฑูรย์. (2561).ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสบาผลือ ในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในจิง.ใน การประชุมวิชาการและนำเสนอ ผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 2 Graduate School Conference 2018 (น. 920-929). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- สุพจน์ กาเข้ม. (2557).ชีววิธีการควบคุมโรคพืชกับการผลิตพืชอาหารปลอดภัย. วารสารข่าวสาร เกษตรศาสตร์, 60(1), 13-21.
- สุกัศ มหัทธนพรค. (2558). รายงานผลการวิจัยเรื่อง การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุม โรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคจากเชื้อ *Colletotrichum spp.* และส่งเสริมการเจริญเติบโต ของพริก. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน).
- สุรชาติ คูอาริยะกุล, ปฏิพัทธ์ ใจปิ่น, วัชรพล บำเพ็ญอยู่, วิมล แก้วสีดา, และสุทธมาศ ณ น่าน. (2557). รายงานผลการวิจัยเรื่อง การอบดินด้วยแสงอาทิตย์และการคลุกเคล้าดินด้วยฝักกาด เจริญเพื่อกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของจิงในแปลงปลูก. กรุงเทพฯ: กรม วิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- อนงค์ จันทรศรีกุล. (2544). โรค – ศัตรูไม้ประดับและวิธีการกำจัดแบบชีวภาพ (พิมพ์ครั้งที่ 7). กรุงเทพฯ: บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.
- อนุสร จันทรแสง, และสุพจน์ กาเข้ม. (2561). กลไกที่หลากหลายของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ ใหม่จากดินบริเวณรากข้าวต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของ ข้าว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, 36(2), 33-42.
- อติยา คำวินิจ, อังสนา อัครพิศาล, พรสุข ชัยสุข, ชีรนดี พวงกฤษ, และเฉลิมศรี นนทสวัสดิ์. (2565). การคัดเลือกพันธุ์ปทุมมาลูกผสมต้านทานต่อโรคเหี่ยวเฉียวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* species complex. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, 40(2), 160-168.
- อรุณ วงศ์จิรัฐติ, สุวภา สาวีภาค, และชนัญกาญจน์ แสงประสาน. (2563). รายงานกิจกรรมส่งเสริม และสนับสนุนการวิจัยการควบคุม โรคเหี่ยวเฉียวในมะเขือเทศโดยชีววิธีด้วยแบคทีเรีย ปฏิปักษ์. สืบค้นจาก http://www.thaiexplore.net/file_upload/submitter/file_doc/75bd8c2a2fcf111cd4ceafade092f489.pdf

บรรณานุกรม (ต่อ)

- อรุณี แท่งทอง, ดิยากร นัตรนภารัตน์, ปริญานูช จุลกะ, และสุพจน์ กาเซ็ม. (2565). การลดการสร้างไบโอฟิล์มที่สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Ralstonia solanacearum* โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* K3. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 19* (น. 35-47). นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- อัญชัน ไตรธิเลน, อมรรัตน์ อุปพงษ์, และสุพจน์ กาเซ็ม. (2558). การควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia Solanacearum* โดยวิธีการเสียบยอด. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 46(3)(พิเศษ), 797-800.
- อารยา บุญศักดิ์, สุภารัตน์ สดุดพันธ์, วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ, และคณิตา เกิดสุข. (2564). ศักยภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. คัดแยกจากดินนาเพื่อควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าว. *Life Sciences and Environment Journal*, 22(2), 137-147.
- Abramczyk, B., Marzec-Grzech, A., Grzech, J., Król, E., Gałczyńska, A., & Oleszek, W. (2022). Biocontrol Potential and Catabolic Profile of Endophytic *Diaporthe* Strain 1420S from *Prunus domestica* L. in Poland—A Preliminary Study. *Agronomy*, 12, 165. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010165>
- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Massachusetts: Elsevier Academic Press.
- Anzian, A., Muhiadin, B. J., Mohammed, N. K., Kadum, H., Marzlan, A.A., Sukor, R., & Meor Hussin, A.S. (2020). Antibacterial Activity and Metabolomics Profiling of Torch Ginger (*Etlingera elatior* Jack) Flower Oil Extracted Using Subcritical Carbon Dioxide (CO₂). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1), 1-8. doi:10.1155/2020/4373401
- Arwiyanto, T., Sqkata, K., Goto, M., Tsuyumu, S., & Takikawa, Y. (1994). Induction of tomatine in tomato plant by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 60, 288-294. Retrieved from https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjphytopath1918/60/3/60_3_288/_pdf

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Ashwini, N., & Srividya, S. (2014). Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *3 Biotech*, 4, 127-136. doi:10.1007/s13205-013-0134-4
- Basha, S., & Ulaganathan, K. (2002). Antagonism of *Bacillus species* (strain BC121) towards *Curvularia lunata*. *Current Science*, 82(12), 1457-1463.
- Begum, M.M., Sariah, M., Zainal Abidin, M.A., Puteh, A.B., & Rahma, M.A. (2008). Ultrastructural Studies of Soybean Seed-borne Infection by *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and Screening of Antagonistic Potentiality by Selected Biocontrol Agents in vitro. *Journal of Tropical Agricultural Science*, 31(2), 247-256.
- Blomme, G., Dita, M., Kim, S. J., Vicente, L.P., Molina, A., Ocimati, W., . . . Prior, P. (2017). Bacterial Diseases of Bananas and Enset: Current State of Knowledge and Integrated Approaches Toward Sustainable Management. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1290. doi:10.3389/fpls.2017.01290
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L.M.P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 97-106.
- Buddenhagen, I.W., Sequeira L., & Kelman A. (1962). Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 52, 7263-774.
- Champoiseau, P. G., Jones, J. B., & Allen, C. (2009). *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 Causes Tropical Losses and Temperate Anxieties. *Plant Health Progress*, 10(1). <https://doi.org/10.1094/PHP-2009-0313-01-RV>
- Chen, Y., Cao, S., Chai, Y., Clardy, J., Kolter, R., & Guo, J.H. (2012). A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants. *Molecular Microbiology*, 85(3), 418-430. doi:10.1111/j.1365-2958.2012.08109.x
- Cheneby, D., Philippot, L., Hartmann, A., He'nault, C., & Germon, J. (2000). 16S rDNA analysis for characterization of denitrifying bacteria isolated from three agricultural soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 34(2), 121-128.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Cho, H., Song, E., Lee, Y. K., Lee, S., Lee, S., Jo, A., ... Hwang, I. (2018). Analysis of Genetic and Pathogenic Diversity of *Ralstonia solanacearum* Causing Potato Bacterial Wilt in Korea. *The Plant Pathology Journal*, 34(1), 23-34. <https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.09.2017.0203>
- Choon, S.Y., & Ding, P. (2016). Growth Stages of Torch Ginger (*Etlingera elatior*) Plant. *Sains Malaysiana*, 45(4), 507–515. Retrieved from [http:// www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-45-4-2016/01%20S.Y.%20Choon.pdf](http://www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-45-4-2016/01%20S.Y.%20Choon.pdf)
- Choudhary, D. K., Nabi, S. U., Dar, M. S., & Khan, K. A. (2018). *Ralstonia solanacearum*: A wide spread and global bacterial plant wilt pathogen. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 85-90.
- Ciampi-Panno, L., Fernandez, C., Bustamante, P., Andrade, N., Ojeda, S., & Contreras, A. (1989). Biological control of bacterial wilt of potatoes caused by *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal*, 66, 315-332. Retrieved from https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00026571/2006-399.pdf
- Cochran, K., Steger, A. J., Holland, R., & Rupe, J. C. (2021). Effects of Soybean Cultivar, Foliar Application of Azoxystrobin, and Year on Seed Vigor and Microflora Under Delayed Harvest Conditions. *Plant Disease*, 105(5), 1289-1297. doi:10.1094/PDIS-04-20-0843-RE
- Cook, R.J., Thomasshow, L.S., Weller, D.M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Banger, G., & Kim, D.S. (1995). Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(10), 4197-4201. doi:10.1073/pnas.92.10.4197
- Cook, R.J., & Baker, K.F. (1983). *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. St. Paul, MN: American Phytopathology Society.
- Davis, R. I., Kokoa, P., Jones, L. M., Mackie, J., Constable, E., Rodoni, B. C., ... Rosel, J.B. (2012). A new wilt disease of banana plants associated with phytoplasmas in Papua New Guinea (PNG). *Australasian Plant Disease Notes*, 7(1), 91-97. doi:10.1007/s13314-012-0056-8

บรรณานุกรม (ต่อ)

- European and Mediterranean Plant Protection Organization. (2004). *Ralstonia solanacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 34(2), 173-178. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2004.00715>
- Freeman, S., Minz, D., Kolesnik, I., Barbul, O., Zveibil, A., Maymon, M., . . . Elad, Y. (2004). *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 110(4), 361-370.
- García, R. O., Kerns, J.P., & Thiessen, L. (2019). *Ralstonia solanacearum* Species Complex: A Quick Diagnostic Guide. *Plant Health Progress*, 20(1), 7-13. <https://doi.org/10.1094/PHP-04-18-0015-DG>
- Gong, M., Wang, J., Zhang, J., Yang, H., Lu, X., Pei, Y., & Cheng, J.Q. (2006). Study of the antifungal ability of *Bacillus subtilis* Strain PY-1 in vitro and identification of its antifungal substance. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 38(4), 233-240. doi:10.1111/j.1745-7270.2006.00157.x
- He, L.Y., Sequeiar, L., & Kelman, A. (1983). Characteristics of Strain of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease*, 67(12), 1357-1361. Retrieved from https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1983Articles/PlantDisease67n12_1357.PDF
- Hernández-Castillo, F. D., Castillo-Reyes, F., Tucuch-Pérez M. A., & Arredondo-Valdes, R. (2020). Biological Efficacy of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. in the Management of Plant Diseases. *Organic Agriculture Edited by Shaon Kumar Das*. <https://doi:10.5772/intechopen.91043>
- Ivey, M. L. L., Gardener, B. B. M., Opina, N., & Miller, S. A. (2007). Diversity of *Ralstonia solanacearum* Infecting Eggplant in the Philippines. *Phytopathology*, 97(11), 1467-75. doi:10.1094/PHYTO-97-11-1467
- Jahan, N., Sultana, S., Adhikary, S. K., Rahman, S., & Yasmin, S. (2013). Evaluation of The Growth Performance of *Trichoderma harzianum* (Rifai.) On Different Culture Media. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 3(4), 44-50. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/326405457>

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Janda, J. M., & Abbott, S.L. (2007). 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in The Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764.
- Jill, E. C. (2004). Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 40-862. doi:10.1128/CMR.17.4.840-862.2004
- Juwita, T., Puspitasari, I. M., & Levita, J. (2018). Torch Ginger (*Etlingera elatior*): A Review on its Botanical Aspects, Phytoconstituents and Pharmacological Activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 21(4), 151-165. doi:10.3923/pjbs.2018.151.165
- Kejela, T., Thakkar, V. R., & Thakor, P. (2016). *Bacillus species* (BT42) isolated from *Coffea arabica* L. rhizosphere antagonizes *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* and also exhibits multiple plant growth promoting activity. *BMC Microbiology*, 16(1), 277. doi:10.1186/s12866-016-0897-y
- Kelman, A. (1954). The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, 44(12), 693-695.
- Kent, A. D., & Triplett, E.W. (2002). Microbial Communities and Their Interactions in Soil and Rhizosphere Ecosystems. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 211-36. doi:10.1146/annurev.micro.56.012302.161120
- Khairy, A. M., Tohamy, M.R.A., Zayed, M. A., & Ali, M.A.S. (2021). Detecting pathogenic bacterial wilt disease of potato using biochemical markers and evaluate resistant in some cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5193-5203. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.045>
- Khaw, S.H. (2001). *The genus Etlingera (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia including a new species*. *Gardens' Bulletin Singapore*, 53(1-2), 191-239. Retrieved from <https://www.nparks.gov.sg/sbg/research/publications/gardens-bulletin-singapore/-/media/sbg/gardens-bulletin/4-4-53-1-2-06-y2001-v53-p1-p2-gbs-pg-191.pdf>

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Kheirandisha, Z., & Harighi, B. (2015). Evaluation of bacterial antagonists of *Ralstonia solanacearum* causal agent of bacterial wilt of potato. *Biological Control*, *86*(1), 14-19. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.03.007
- Kim, S. G., Hur, O., Ro, N., Ko, H., Rhee, J., Sung, S.S., . . . Baek, H. J. (2016). Evaluation of Resistance to *Ralstonia solanacearum* in Tomato Genetic Resources at Seedling Stage. *The plant pathology journal*, *32*(1), 58-64. doi:10.5423/PPJ.NT.06.2015.0121
- Kipngeno, P., Losenge, T., Maina, N., Kahangi, E., & Juma, P. (2015). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* against *Pythium aphanidermatum* in tomatoes. *Biological Control*, *90*, 92-95. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.05.017
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and Promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, *94*(11), 1259-1266. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259
- Kwon, J.W., & Kim, S. D. (2014). Characterization of an Antibiotic Produced by *Bacillus subtilis* JW-1 that Suppresses *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*(1), 13-18. doi:10.4014/jmb.1308.08060
- Lemessa, F., & Zeller, W. (2005). Biological control of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia: Determination of biovars of *Ralstonia solanacearum*. In *Biocontrol of Bacterial Plant Diseases, 1st Symposium 2005* (pp. 119-122). Retrieved from http://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00026571/2006-399.pdf
- Liu, H., Li, S., Luo, Y., Luo, L., Li, J., & Guo, J. (2014). Biological control of Ralstonia wilt, Phytophthora blight, Meloidogyne root-knot on bell pepper by the combination of *Bacillus subtilis* AR12, *Bacillus subtilis* SM21 and *Chryseobacterium* sp. R89. *European Journal of Plant Pathology*, *139*(1), 107-116. doi:10.1007/s10658-013-0369-2

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Martinez-Absalon, S.C., Orozco – Mosqueda, M.C., Martinez-Pacheco, M.M., Farias-Rodriguez, R., Govindappa, M., & Santoyo, G. (2012). Isolation and molecular characterization of a novel strain of *Bacillus* with antifungal activity from the sorghum rhizosphere. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 11(3), 2665-2673. doi:10.4238/2012.July.10.15
- McKenney, P.T., Driks, A., & Eichenberger, P. (2013). The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1), 33-44. doi:10.1038/nrmicro2921
- Nair, G. R., & Raja S, S.S. (2018). Climate and Soil Properties Influence Species Diversity of Soil *Bacillus* Community in India. *Microbiology Insights*, 11. doi:10.1177/1178636118810366
- Nguyen, M.T., & Ranamukhaarachchi, S.L. (2010). Soil – Borne Antagonists for Biological Control of Bacterial Wilt Disease caused by *Ralstonia solanacearum* in Tomato and Pepper. *Journal of Plant Pathology*, 92(2), 395-406. doi:10.4454/jpp.v92i2.183
- Nicholson, W. L. (2002). Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 59(3), 410–416. doi:10.1007/s00018-002-8433-7
- Paret, M. L., Cabos, R., Kratky, B. A., & Alvarez, A. M. (2010). Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. *Plant Disease*, 94(5), 521-527. doi:10.1094/PDIS-94-5-0521
- Pastrik, K.H., Elphinstone, J.G., & Pukall, R. (2002). Sequence analysis and detection of *Ralstonia solanacearum* by multiplex PCR amplification of 16S–23S ribosomal intergenic spacer region with internal positive control. *European Journal of Plant Pathology*, 108(9), 831-842. doi:10.1023/A:1021218201771
- Podbielska, M., Kus-Li'skiewicz, M., Jagusztyn, B., Piechowicz, B., Sadłowski, S., Słowik-Borowiec, M., . . . Szpyrka, E. (2020). Influence of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on Penthiopyrad Degradation under Laboratory and Field Studies. *Molecules*, 25(6), 1421. doi:10.3390/molecules25061421

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Poveda, J., & Eugui, D. (2022). Combined use of *Trichoderma* and beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. *Biological Control*, 176. doi:10.1016/j.biocontrol.2022.105100
- Prameela, T. P., & Bhai, R. S. (2019). Diversity and antagonistic potential of apoplastic bacteria against *Ralstonia pseudosolanacearum* race 4 causing bacterial wilt of ginger. *Journal of Biological Control*, 33(3), 197-216. doi:10.18311/jbc/2019/23733
- Rahman, M. A., Ansari, T. H., Alam, M. F., Moni, J. R., & Ahmed, M. (2018). Efficacy of *Trichoderma* against *Colletotrichum capsici* Causing Fruit Rot Due to Anthracnose of Chilli (*Capsicum annum* L.). *The Agriculturists*, 16(2), 75-87. doi:10.3329/agric. v16i02.40345
- Rangel-Montoya, E.A., Delgado-Ramírez, C. S., Sepulveda, E., & Hernández-Martínez, R. (2022). Biocontrol of *Macrophomina phaseolina* Using *Bacillus amyloliquefaciens* Strains in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Agronomy*, 12(3), 676. doi:10.3390/agronomy12030676
- Rodrigues, L.M.R., Destéfano, S.A.L., Diniz, M.C.T., Comparoni, R., & Neto, J. R. (2011). Pathogenicity of Brazilian strains of *Ralstonia solanacearum* in *Strelitzia reginae* seedlings. *Tropical Plant Pathology*, 36(6), 409-413.
- Romeiro, R. S., Filho, R. L., Macagnan, D., Garcia, F., & Silva, H. (2010). Evidence that the biocontrol agent *Bacillus cereus* synthesizes protein that can elicit increased resistance of tomato leaves to *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology*, 35(1), 11-15. doi:10.1590/S1982-56762010000100002
- Rosovitz, M.J., Voskuil, M.I., & Chambliss, G.H. (1998). *Bacillus*. In Topley & Wilson's *Microbiology and Microbial Infections Systematic Bacteriology* (Vol. 2). New York: Oxford University Press.
- Salem, E. A., & Abd El-Shafea, Y. M. (2018). Biological control of potato soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1). doi:10.1186/s41938-018-0100-x

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Santoso I., Fadhilah Q. G., Safitri S.D., Handayani S., Maryanto A. E., & Yasman Y. 2022. Inhibition of the phytopathogenic fungi *Curvularia lunata* BM and *Ganoderma* sp. TB4 by antifungal compounds produced by *Bacillus siamensis* LDR grown on hanjeli (*Coix lacryma-jobi* L.) starch. *Pharmacia* 69(1), 203-210. doi:10.3897/pharmacia.69.e80180
- Saxena, A.K., Kumar, M., Chakdar1, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D.J. (2019). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1583-1594. doi:10.1111/jam.14506
- Seleim, M.A.A., Abo-Elyousr, K.A. M., Abd-El-Moneem, K.M., & Saeed, F. A. (2014). First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 Race 1 on Tomato in Egypt. *The plant pathology journal*, 30(3), 299-303. doi:10.5423/PPJ.NT.10.2013.0101
- Senkovs, M., Nikolajeva, V., Makarenkova, G., & Petrina, Z. (2021). Influence of *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* as biocontrol and plant growth promoting agents on soil microbiota. *Annals of Microbiology*, 71(1). doi:10.1186/s13213-021-01647-3
- Shekhawat, G.S., Chakrabarti, S.K., Kishose, V., Sunaina, V., & Ashok, V. G. (1992). Possibilities of biological management of potato bacterial wilt with strains of *Bacillus* sp., *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and Actinomyces. In G.L. Hartman & A.C. Hayward (Eds.), *Bacterial wilt: Proceedings of an International Conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28–31 October 1992* (pp. 327-330). Canberra, Australia: Australia Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Silo-Suh, L. A., Stabb, E. V., Raffel, S.J., & Handelsman, J. (1998). Target range of zwittermicin A, an aminopolyol antibiotic from *Bacillus cereus*. *Current Microbiology*, 37(1), 6-11.
- Singh, D., Yadav, D.K., Chaudhary, G., Rana, V.S., & Sharma, R.K. (2016). Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* for Biocontrol of Bacterial Wilt of Tomato Incited by *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 07(1). doi:10.4172/2157-7471.1000327

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Singh, D., Yadav, D.K., Sinha, S., & Upadhyay, B.K. (2012). Utilization of plant growth promoting *Bacillus subtilis* isolates for the management of bacterial wilt incidence in tomato caused by *Ralstonia solanacearum* race 1 biovar 3. *Indian Phytopath*, 65(1), 18-24.
- Singh, N., Pandey, R. P., Dubey, C., & Maheshwari, D. K. (2008). Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1669-1679. doi:10.1007/s11274-008-9680-z
- Siala, A., Hill, I. R., & Gray, T. R. G. (1974). Populations of Spore-forming Bacteria in an Acid Forest Soil, with Special Reference to *Bacillus subtilis*. *Journal of General Microbiology*, 81(1), 183-190.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., . . . Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, 9(6), 762. doi:10.3390/plants9060762
- Sowanpreecha, R., Kanchanabanca, C., Sangvanich, P., & Rerngsamran, P. (2018). *Bacillus subtilis* N3 as a Biocontrol Agent for *Curvularia lunata* and its Antifungal Protein Properties. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(3), 1560-8530.
- Stander, E. I. M., Hammes, P.S., & Beyers, E. A. (2003). Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 in soil under different cropping systems. *South African Journal of Plant and Soil*, 20(4), 176-179. doi:10.1080/02571862.2003.10634931
- Steen, J. B. (2013). *The general stress response of Bacillus subtilis* (Master's thesis). Retrieved from https://pure.uva.nl/ws/files/1518370/130888_thesis.pdf
- Suchoff, D. H., Louws, F. J., & Gunter, C. C. (2019). Yield and Disease Resistance for Three Bacterial Wilt-resistant Tomato Rootstocks. *HortTechnology*, 29(3), 330-337.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Suryanto, D., Yeldi, N., & Munir, E. (2016). Antifungal Activity of Endophyte Bacterial Isolates From torch Ginger (*Etlingera elicitator* (Jack.) RM Smith)) Root to Some Pathogenic Fungal Isolates. *International Journal of PharmTech Research*, 9(8), 340-347.
- Tan, Z., Lin B., & Zhang, R. (2013). A novel antifungal protein of *Bacillus subtilis* B25. *SpringerPlus*, 2(1), 543. doi:10.1186/2193-1801-2-543
- Vasudevan, G., Siddarthan, V., & Ramatchandirane, P. S. (2015). Predominance of *Bacillus sp.* in soil samples of the southern regions of Western Ghats, India. *Annals of Microbiology*, 65(1), 431-441. doi:10.1007/s13213-014-0876-1
- Vries, Y. P. (2006). *Bacillus cereus* spore formation, structure, and germination (Doctoral dissertation). Retrieved from <https://research.wur.nl/en/publications/bacillus-cereus-spore-formation-structure-and-germination>
- Winstead, N.N., & Kelman, A. (1952). Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 42(7), 628-634.
- Yanti, Y., Reelin, W., & Nasution, C. R. (2018). Characterizations of endophytic *Bacillus* strains from tomato roots as growth promoter and biocontrol of *Ralstonia solanacearum*. *Biodiversitas*, 19(3), 906-911. doi:10.13057/biodiv/d190320
- Ying, Z., Hu, A., Zhou, J., Zhang, W., & Li, P. (2020). Comparison of Bacterial Communities in Soil Samples with and without Tomato Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* Species Complex. *BMC Microbiology*, 20(89). doi:10.21203/rs.2.20589/v1
- Zhanga, J., Guoa, T., Wanga, P., Tiana, H., Wanga Y., & Cheng, J. (2018). Characterization of diazotrophic growth-promoting rhizobacteria isolated from ginger root soil as antagonists against *Ralstonia solanacearum*. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 32(6), 1447-1454. doi:10.1080/13102818.2018.1533431



ภาคผนวก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

1.การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato synthesis agar (PSA) ปริมาณ 1 ลิตร

Ca (NO ₃) ₂ 4H ₂ O	0.5 กรัม
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	2 กรัม
Peptone	15 กรัม
Sucrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม
มันฝรั่ง	300 กรัม

วิธีการเตรียม

นำมันฝรั่งล้างน้ำให้สะอาด ปอกเปลือก และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มในน้ำ 1 ลิตร จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำกากมันฝรั่งทิ้ง นำสารเคมีทั้งหมด ยกเว้นผงวุ้นใส่ในน้ำมันฝรั่ง ต้มต่อจนเดือด แล้วเติมผงวุ้นที่ละลายในน้ำ 250 มิลลิลิตร พอเดือดอีกครั้งใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำ 250 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนำออกมาจากหม้อนึ่งความดันไอแล้ว รอให้อาหารอุ่น แล้วนำมาเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย tetrazolium chloride agar (TZC) จำนวน 1 ลิตร

1.2.1 เตรียม TZC stock solution

ชั่ง 2,3,5-triphenyl tetrazolium Chloride (TZC) จำนวน 1 กรัม ละลายน้ำ autoclave จากนั้นกรองด้วย filter คัดหลอดสลิ้ง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปลอ่ยให้สารละลายไหลผ่าน filter ซ้ำๆ ดันไว้ใส่ขวดสีชา หรือขวดที่หุ้มด้วยฟรอย

1.2.2 เตรียม Basal Medium

D-Glucose	10 กรัม
Peptone	10 กรัม
Casein – Enzyme	1 กรัม
Agar	18 กรัม

ซังสาร และนำ D-Glucose Peptone และ Casein – Enzyme ละลายน้ำ เดิม Agar ลงไป ปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร หลังจากนั้นนำเข้าหม้อนึ่งความดันไ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเลี้ยงเชื้อ ต้องรอให้ Basal Medium plate อุ่นแล้วเติม TZC stock solution ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2.การเตรียมสารเคมี

2.1 การเตรียม 1.5 เปอร์เซนต์ อะกราโรสเจล

Agarose	1.5 กรัม
1X TBE	100 มิลลิลิตร

ซังสาร และนำมาใส่ในขวด ปิดฝาขวด แล้วเอาเข้าเครื่องไมโครเวฟ ประมาณ 15 นาที จนสารละลายหมด นำออกแกว่งในถาดน้ำให้พออุ่น แล้วเทใส่ถาดเจลที่เตรียมไว้





รูปภาคผนวกที่ 1 ดอกดาหลาทั่วไป (*Etlingera elatior* (Jack))

ที่มา : ผู้วิจัย



รูปภาคผนวกที่ 2 ดอกดาหลาพันธุ์ดาหลาดำ (*Etlingera fulgens* (Ridl.) C.K.Lim)

ที่มา : ผู้วิจัย



รูปภาคผนวกที่ 3 ดอกดาหลาพันธุ์กุหลาบสยาม (*Etlingera corneri*)

ที่มา : ผู้วิจัย



รูปภาคผนวกที่ 4 ดอกดาหลาพันธุ์ดาหลาถ้วย (*Etlingera venusta* (Ridl.) R.M.Sm.)

ที่มา : ผู้วิจัย



รูปภาคผนวกที่ 5 ดอกดาหลาพันธุ์ดาหลาจี๊แมว (*Etlingera maingayi*)

ที่มา : ผู้วิจัย

Query: 1=TTYL - 14 Query ID: lcl|Query_28743 Length: 1441

>Bacillus subtilis strain Bobby2007 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: EF563825.1 Length: 1434 Range 1: 1 to 1425

Score:2603 bits(1409) ,**Expect:**0.0, **Identities:**1424/1430 (99%) ,**Gaps:**5/1430 (0%) ,
Strand: Plus/Minus

Query	GCGGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTGCAAACCTCTCGTGGTGTG	60
Sbjct	GCGGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTGCAAACCTCTCGTGGTGTG	1366
Query	ACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGTGATCCGCGATTAC	120
Sbjct	ACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGTGATCCGCGATTAC	1306
Query	TAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTT	180
Sbjct	TAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTT	1246
Query	GTGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTCGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGT	240
Sbjct	GTGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTCGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGT	1186
Query	GTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTTCTCTCCGG	300
Sbjct	GTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTTCTCTCCGG	1131
Query	GTTGTACCCGCGAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT	360
Sbjct	TTTGTACCCGCGAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT	1071
Query	TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCAC	420
Sbjct	TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCAC	1011
Query	CACCTGTCACTCTGTCCCCGAGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCAA	480
Sbjct	CACCTGTCACTCTGTCCCCGAGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCAA	951
Query	GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	540
Sbjct	GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	891
Query	GCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTA	600
Sbjct	GCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTA	831
Query	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	660
Sbjct	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	771
Query	GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTC	720
Sbjct	GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTC	711
Query	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	780
Sbjct	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	651
Query	CCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCAATGAC	840
Sbjct	CCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCAATGAC	591
Query	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCGCTGCGAGCCCTTT	900
Sbjct	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCGCTGCGAGCCCTTT	531

Query	ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	960
Sbjct	ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	471
Query	GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCAAGCAGTTACTCTTGCACTTGT	1020
Sbjct	GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCAAGCAGTTACTCTTGCACTTGT	411
Query	TCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTC	1080
Sbjct	TCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTC	351
Query	CGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC	1140
Sbjct	CGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC	291
Query	CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCAGGTGCGGTACGCATCGTCGCCTTG	1200
Sbjct	CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCAGGTGCGGTACGCATCGTCGCCTTG	231
Query	GTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCG	1260
Sbjct	GTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCG	171
Query	AAACCGTCTTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTT	1320
Sbjct	AAACCGTCTTTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTT	111
Query	TCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGC	1380
Sbjct	TCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGC	51
Query	TAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTCCGCTCGACTTGCATGTATAGC	1430
Sbjct	TAACATCCGGGAGCAAGCTCCCTTCTGTCCGCTCGACTTGCATGTATAGC	1

รูปภาพผนวกที่ 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณย์ไอโซเลท TTYL - 14 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (simulation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (Accession no. EF563825.11) ที่ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซ็นต์

Query: 2= TTYL-18 Query ID: lcl|Query_13261 Length: 1433

>Bacillus subtilis strain BSFT-39 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: MN945444.1 Length: 1479 Range 1: 9 to 1429

Score:2617 bits(1417), **Expect:**0.0, **Identities:**1419/1421 (99%),
Gaps:0/1421 (0%), **Strand:** Plus/Minus

Query	GGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGAC	60
Sbjct	GGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGAC	1370
Query	GGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTA	120
Sbjct	GGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTA	1310
Query	GCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGT	180
Sbjct	GCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGT	1250
Query	GGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGT	240
Sbjct	GGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGT	1190
Query	AGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCA	300
Sbjct	AGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCA	1130
Query	CCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTC	360
Sbjct	CCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTC	1070
Query	GTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT	420
Sbjct	GTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGT	1010
Query	CACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGG	480
Sbjct	CACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGG	950
Query	TAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCG	540
Sbjct	TAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCG	890
Query	TCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCAGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTT	600
Sbjct	TCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCAGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTT	830
Query	AGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGG	660
Sbjct	AGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGG	770
Query	ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACA	720
Sbjct	ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACA	710
Query	GACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTAC	780
Sbjct	GACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTAC	650
Query	ACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCC	840
Sbjct	ACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCC	590
Query	GGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCA	900
Sbjct	GGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCA	530
Query	ATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCC	960
Sbjct	ATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCC	470

Query	GTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCC	1020
Sbjct	GTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCC	410
Query	CTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAG	1080
Sbjct	CTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAG	350
Query	ACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTC	1140
Sbjct	ACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTC	290
Query	TCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGGTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGC	1200
Sbjct	TCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGGTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGC	230
Query	CGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCA	1260
Sbjct	CGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCA	170
Query	CCTTTTATGTCTGAACCATGCGGTTTACAGACAACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGG	1320
Sbjct	CCTTTTATGTCTGAACCATGCGGTTTACAGACAACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGG	110
Query	AGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACAT	1380
Sbjct	AGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACAT	50
Query	CAGGGAGCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGACTGCAGTATAG	1421
Sbjct	CAGGGAGCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGACTGCAGTATAG	9

รูปภาคผนวกที่ 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัฯไอโซเลท TTYL – 18 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (simulation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (Accession no. MN945444.1) ที่ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซ็นต์

>Bacillus subtilis HCM8-3 gene for 16S rRNA, partial sequence

Score:2492 bits(1349,Expect:0.0,Identities:1373/1391(99%),

Gaps: 4/1391 (0%), **Strand:** Plus/Minus

Query	TAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTACGGGCGGTGTGT 	60
Sbjct	TAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTACGGGCGGTGTGT 	1363
Query	ACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGC 	120
Sbjct	ACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGC 	1303
Query	TTACACGAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTGTGGGATTGGCTT 	180
Sbjct	TTACACGAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTGTGGGATTGGCTT 	1243
Query	AACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTTGTAGCAGTGTGTAGCCAGGTCA 	240
Sbjct	AACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTTGTAGCAGTGTGTAGCCAGGTCA 	1183
Query	TAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCGTCACCCCTTCCTCCGGTTTGTACACGGCAG 	300
Sbjct	TAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCGTCACCCCTTCCTCCGGTTTGTACACGGCAG 	1127
Query	TCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG 	360
Sbjct	TCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG 	1067
Query	GACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTG 	420
Sbjct	GACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTG 	1007
Query	CCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTT 	480
Sbjct	CCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTT 	947
Query	CTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTC 	540
Sbjct	CTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTC 	887
Query	CTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCA 	600
Sbjct	CTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCA 	827
Query	GCACTAAGGGGCGGAAACCCCTTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCA 	660
Sbjct	GCACTAAGGGGCGGAAACCCCTTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCA 	767
Query	GGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGA 	720
Sbjct	GGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGA 	707
Query	GAGTCGCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGA 	780
Sbjct	GAGTCGCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGA 	647
Query	ATTCCACTCTCCTCTTCTGCACCTCAAGTTCCCGAGTTTCCAATGACCCCTCCCGGTTGAG 	840
Sbjct	ATTCCACTCTCCTCTTCTGCACCTCAAGTTCCCGAGTTTCCAATGACCCCTCCCGGTTGAG 	587
Query	CCGGGGGCTTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTC 	900
Sbjct	CCGGGGGCTTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTC 	527

Query	CGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTT	960
Sbjct	CGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTT	467
Query	TCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCTTAACAA	1020
Sbjct	TCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCTTAACAA	407
Query	CAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGCGTTGCTCCGTCAGACTTTTCG	1080
Sbjct	CAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGCGTTGCTCCGTCAGACTTTTCG	347
Query	TCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC	1140
Sbjct	TCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC	287
Query	CAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACC	1200
Sbjct	CAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCGTTACC	227
Query	TCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTA	1260
Sbjct	TCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTA	167
Query	TGTCTGAACCATGCGGTTCAAACAACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATC	1320
Sbjct	TGTCTGAACCATGCGGTTCAAACAACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATC	107
Query	CCAGTNTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACATCAGGGAG	1380
Sbjct	CCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACATCAGGGAG	47
Query	CAAGCTCCCAT	1391
Sbjct	CAAGCTCCCAT	36

รูปภาคผนวกที่ 8 ลำดับนิวคลีโอไทด์ชิ้น 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BTYL-5 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (simulation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (Accession no. LC543400.1) ที่ ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซ็นต์

Query: 4=BTYL-4 Query ID: lcl|Query_41051 Length: 1432

>Bacillus amyloliquefaciens strain HJ1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: MT678828.1 Length: 1453 Range 1: 19 to 1434 Sequence

ID: MT678828 Length: 1453 Range 1: 19 to 1434

Score: 2386 bits(1292), **Expect:**0.0, **Identities:** 1384/1427 (97%),

Gaps: 12/1427 (0%), **Strand:** Plus/Minus

Query	CTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCAGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG	66
Sbjct	CTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCAGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG	1375
Query	GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGC	126
Sbjct	GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGC	1315
Query	GATTCCAGCTTCACGCAGTCAAGTTGCAAACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGG	186
Sbjct	GATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGG	1255
Query	GATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTTGTAGCACGTGTGTAG	246
Sbjct	GATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGCCCATTTGTAGCACGTGTGTAG	1195
Query	CCCAGGTCATAAGGGGCACCCAGGATGATTTGGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGCTTG	306
Sbjct	CCCAGGTCATAAGGGGCACCCATGATGATTTGGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGCTTG	1140
Query	TCACCGGCAGTCACCTTAAACTGCCCAACATGAATGCTGGCAACTAAGATCAACGGGTTG	366
Sbjct	TCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACATGAATGCTGGCAACTAAGATCAACGGGTTG	1082
Query	CGCTCGTTGCGGTGACTGAACCCAACATCTCACGACACGAGATGACGACAACCATGCACC	426
Sbjct	CGCTCGTTGCGGTGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACC	1023
Query	ACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGCGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAA	486
Sbjct	ACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGCGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAA	964
Query	GACCTCGTAAGCTTCTTCGCGTCGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	546
Sbjct	GACCTGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	904
Query	GCCCCCGTCAATTCTCTGAGTCTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCCTA	606
Sbjct	GCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCCTA	844
Query	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCATACAATTAGCACTCATCGTATAC	666
Sbjct	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	784
Query	GGCGTGAACTACCAGGGTATATAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTC	726
Sbjct	GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTC	724
Query	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	786
Sbjct	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	664
Query	CCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGAC	846
Sbjct	CCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGAC	604
Query	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAAACCGCCTGCGAGCCCTTT	906
Sbjct	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAAACCGCCTGCGAGCCCTTT	544

Query	ACGCCCAATAATTCCAGACAACGCTGGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	966
Sbjct	ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	484
Query	GTTAGCCGTGACTTTCTGGCTAGGCACCGTCAAGGCGCGCCATATTGGAACGGCACTTG	1026
Sbjct	GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCGCCCTATTTGAACGGCACTTG	424
Query	TTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCAGAAAACCTTCATCACTCACGCGCGTTGCT	1086
Sbjct	TTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGCGTTGCT	364
Query	CCGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCAGTAGGAGTCTGGG	1146
Sbjct	CCGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCAGTAGGAGTCTGGG	304
Query	CCGTGTCTCAGTCCCAGTGGTGACCCGATCACCCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCC	1206
Sbjct	CCGTGTCTCAGTCCCAGTGGTGCCCGATCACCCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTCGCC	246
Query	TTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAG	1266
Sbjct	TTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAG	186
Query	CCGAAGCCACCTTTTATGTCTGAACCATGCGGTTCAAACAACCATCCGGTATTAGCCCCG	1326
Sbjct	CCGAAGCCACCTTTTATGTCTGAACCATGCGGTTCAAACAACCATCCGGTATTAGCCCCG	126
Query	GTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGC	1386
Sbjct	GTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGC	66
Query	CGCTAACATCAGGGACCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGACTGCATGT	1432
Sbjct	CGCTAACATCAGGGAGCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGACTGCATGT	19

รูปภาคผนวกที่ 9 ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียปลูกพืชไอโซเลท BTYL-4 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (simulation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* (Accession no. MT678828.1) ที่ความเหมือน (identity) 97 เปอร์เซ็นต์

Query: 5= MGYL-1 Query ID: lcl|Query_108227 Length: 1143

>Bacillus altitudinis strain MSL_3055 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: KT719885.1 Length: 1422 Range 1: 284 to 1421

Score:2012 bits(1089), **Expect:**0.0, **Identities:**1121/1138 (99%),
Gaps:10/1138 (0%), **Strand:** Plus/Minus

Query	CTTCGGCGGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCAGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTG	70
Sbjct	CTTCGGCGGCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCAGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTG	1362
Query	GTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCG	130
Sbjct	GTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCG	1302
Query	ATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGA	190
Sbjct	ATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGA	1242
Query	GATTTATGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTCGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCA	250
Sbjct	GATTTATGGGATTGGCTAAACCTTGCGGTCTCGCAGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCA	1182
Query	CGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGG	310
Sbjct	CGTGTGTAGCCAGGTCTATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGG	1122
Query	TTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT	370
Sbjct	TTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGT	1062
Query	TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAACCATGCAC	430
Sbjct	TGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAACCATGCAC	1002
Query	CACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCAA	490
Sbjct	CACCTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTCAGAGGATGTCAA	942
Query	GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	550
Sbjct	GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGG	882
Query	GCCCCGTCGAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTA	610
Sbjct	GCCCCGTCGAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTA	822
Query	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	670
Sbjct	ATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTAC	762
Query	GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTC	730
Sbjct	GGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTTCGCTCCTCAGCGTC	702
Query	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	790
Sbjct	AGTTACAGACCAGAGAGTCGCCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTCA	642
Query	CCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCAATGAC	850
Sbjct	CCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCAATGAC	582
Query	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTT	910
Sbjct	CCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTT	522

Query	ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	969
Sbjct	ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA	462
Query	GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGT	1029
Sbjct	GTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGT	402
Query	TCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTC	1085
Sbjct	TCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTC	342
Query	CGTCNGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG	1138
Sbjct	CGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG	284

รูปภาคผนวกที่ 10 ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท MGYL-1 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (simulation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus altitudinis* (Accession no. KT719885.1) ที่ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซ็นต์



Query: r1 = RSYL-1 Query ID: lcl|Query_393473 Length: 1426
 > Ralstonia solanacearum strain HN4B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: MN508417.1 Length: 1436 Range 1: 14 to 1420
Score:2584 bits(1399), **Expect:**0.0,**Identities:**1407/1410 (99%), **Gaps:**3/1410 (0%),
Strand: Plus/Minus

Query	ATCGCCCTCCTTGCGGTTAGGCTAACTACTTCTGGTAAAGCCCACTCCCATGGTGTGACG	60
Sbjct	ATCGCCCTCCTTGCGGTTAGGCTAACTACTTCTGGTAAAGCCCACTCCCATGGTGTGACG	1361
Query	GGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAG	120
Sbjct	GGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAG	1301
Query	CGATTCCAGCTTCACGTAGTCGAGTTGCAGACTACGATCCGGACTACGATGCATTTTCTG	180
Sbjct	CGATTCCAGCTTCACGTAGTCGAGTTGCAGACTACGATCCGGACTACGATGCATTTTCTG	1241
Query	GGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTGTATGCACCATTTGTATGACGTGTGAA	240
Sbjct	GGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTGTATGCACCATTTGTATGACGTGTGAA	1181
Query	GCCCTACCCATAAGGGCCATGAGGACTTCGACGTCATCCCCACCTTCCTCCCGGTTTGT	300
Sbjct	GCCCTACCCATAAGGGCCATGAGGACTTCGACGTCATCCCCACCTTCCTCCCGGTTTGT	1124
Query	CACCGGAGTCTCTCTAGAGTGCCCTTTTCGTAGCAACTAGAGACAAGGGTTGCGCTCGTT	360
Sbjct	CACCGGAGTCTCTCTAGAGTGCCCTTTTCGTAGCAACTAGAGACAAGGGTTGCGCTCGTT	1064
Query	GCGGGACTTAACCCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTC	420
Sbjct	GCGGGACTTAACCCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTC	1004
Query	CACCTTTCTCTTTTCGAGCACCTAATGCATCTCTGCTTCGTTAGTGGCATGTCAAGGGTAGG	480
Sbjct	CACCTTTCTCTTTTCGAGCACCTAATGCATCTCTGCTTCGTTAGTGGCATGTCAAGGGTAGG	944
Query	TAAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCG	540
Sbjct	TAAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCG	884
Query	TCAATTCCTTTGAGTTTAACTCTGCGACCGTACTCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTT	600
Sbjct	TCAATTCCTTTGAGTTTAACTCTGCGACCGTACTCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTT	824
Query	AGCTACGTTACTAAGGAAATGAATCCCCAACAAGTGTGACATCGTTTAGGGCGTGGAC	660
Sbjct	AGCTACGTTACTAAGGAAATGAATCCCCAACAAGTGTGACATCGTTTAGGGCGTGGAC	764
Query	TACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTGTTATC	720
Sbjct	TACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTGTTATC	704
Query	CCAGGAGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACAC	780
Sbjct	CCAGGAGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACAC	644
Query	GTGGAATTCTACCTCCCTCTGACACACTCTAGCCGTGCAGTCACCAATGCAATTTCCAGG	840
Sbjct	GTGGAATTCTACCTCCCTCTGACACACTCTAGCCGTGCAGTCACCAATGCAATTTCCAGG	584

Query	TTAAGCCCGGGGATTTACATCGGTCTTGACACAACCGCCTGCGCACGCTTTACGCCAGT	900
Sbjct	TTAAGCCCGGGGATTTACATCGGTCTTGACACAACCGCCTGCGCACGCTTTACGCCAGT	524
Query	AATTCGATTAACGCTTGGACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGG	960
Sbjct	AATTCGATTAACGCTTGGACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGG	464
Query	TCCTTATTCTTCCGGTACCGTCATCCACACCAGGTATTAACCAGTGCGATTTCTTTCCGG	1020
Sbjct	TCCTTATTCTTCCGGTACCGTCATCCACACCAGGTATTAACCAGTGCGATTTCTTTCCGG	404
Query	ACAAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATTGCTGGATCAGGGT	1080
Sbjct	ACAAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATTGCTGGATCAGGGT	344
Query	TGCCCCCATTTGTCCAAAATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCA	1140
Sbjct	TGCCCCCATTTGTCCAAAATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCA	284
Query	GTCCCAGTGTTGGCTGATCGTCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTT	1200
Sbjct	GTCCCAGTGTTGGCTGATCGTCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTT	224
Query	TACCCACCAACTAGCTAATCAGACATCGGCCGCTCCTATAGCATGAGGCCTTGCGGTCC	1260
Sbjct	TACCCACCAACTAGCTAATCAGACATCGGCCGCTCCTATAGCATGAGGCCTTGCGGTCC	164
Query	CCCACCTTTCACCTCAGGTCGTATGCGGTATTAGCTAGTCTTTCGACTAGTTATCCCCCA	1320
Sbjct	CCCACCTTTCACCTCAGGTCGTATGCGGTATTAGCTAGTCTTTCGACTAGTTATCCCCCA	104
Query	CTACAGGGCACGTTCGGATGTATTACTACCCGTTTCGCCACTCGCCGGCAGGTAGCAAGC	1380
Sbjct	CTACAGGGCACGTTCGGATGTATTACTACCCGTTTCGCCACTCGCCGGCAGGTAGCAAGC	44
Query	TACCCCGCTGCGGTTTCGACTGCATGGTAA	1410
Sbjct	TACCCCGCTGCGGTTTCGACTGCATGGTAA	14

รูปภาพผนวกที่ 11 ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวโงโงเลข RSYL-1 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (similation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *R. solanacearum* (Accession no. MN508417.1) ที่ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซนต์

Query: r2 = RSYL-2 Query ID: lcl|Query_511463 Length: 1424

>Ralstonia solanacearum strain YS-Y 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: MN508408.1 Length: 1436 Range 1: 11 to 1419

Score:2593 bits(1404), **Expect:**0.0, **Identities:**1409/1411 (99%),
Gaps:2/1411(0%), **Strand:** Plus/Minus

Query	ATCGCCCTCCTTGCGGTTAGGCTAACTACTTCTGGTAAAGCCCACTCCCATGGTGTGACG	60
Sbjct	ATCGCCCTCCTTGCGGTTAGGCTAACTACTTCTGGTAAAGCCCACTCCCATGGTGTGACG	1360
Query	GGCGGTGTGTACAAGACCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAG	120
Sbjct	GGCGGTGTGTACAAGACCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAG	1300
Query	CGATTCCAGCTTCACGTAGTCGAGTTGCAGACTACGATCCGGACTACGATGCATTTTCTG	180
Sbjct	CGATTCCAGCTTCACGTAGTCGAGTTGCAGACTACGATCCGGACTACGATGCATTTTCTG	1240
Query	GGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTGTATGCACCATTGTATGACGTGCTCG	240
Sbjct	GGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCTCTGTATGCACCATTGTATGACGTGCTCG	1182
Query	AAGCCCTACCCATAAGGGCCATGAGGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTC	300
Sbjct	AAGCCCTACCCATAAGGGCCATGAGGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTC	1122
Query	ACCGGCAGTCTCTCTAGAGTGCCCTTTCGTAGCAACTAGAGACAAGGGTTGCGCTCGTTG	360
Sbjct	ACCGGCAGTCTCTCTAGAGTGCCCTTTCGTAGCAACTAGAGACAAGGGTTGCGCTCGTTG	1062
Query	CGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCC	420
Sbjct	CGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCC	1002
Query	ACTTTCTCTTTTCGAGCACCTAATGCATCTCTGCTTCGTTAGTGGCATGTCAAGGGTAGGT	480
Sbjct	ACTTTCTCTTTTCGAGCACCTAATGCATCTCTGCTTCGTTAGTGGCATGTCAAGGGTAGGT	942
Query	AAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGT	540
Sbjct	AAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCACATCATCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGT	882
Query	CAATTCCTTTGAGTTTTAATCTTGCAGCCGTAATCCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTTA	600
Sbjct	CAATTCCTTTGAGTTTTAATCTTGCAGCCGTAATCCCCAGGCGGTCAACTTCACGCGTTA	822
Query	GCTACGTTACTAAGGAAATGAATCCCCAACAAGTAGTTGACATCGTTTAGGGCGTGGA	660
Sbjct	GCTACGTTACTAAGGAAATGAATCCCCAACAAGTAGTTGACATCGTTTAGGGCGTGGA	762
Query	ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTGTTATCC	720
Sbjct	ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTGTTATCC	702
Query	CAGGAGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACACG	780
Sbjct	CAGGAGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCTCCACATCTCTACGCATTTCACTGCTACACG	642
Query	TGGAATTCTACCTCCCTCTGACACACTTAGCCGTGCAGTCACCAATGCAATTTCCAGGT	840
Sbjct	TGGAATTCTACCTCCCTCTGACACACTTAGCCGTGCAGTCACCAATGCAATTTCCAGGT	582
Query	TAAGCCCGGGGATTTACATCGGTCTTGACACAACCGCCTGCGCACGCTTTACGCCCAGTA	900
Sbjct	TAAGCCCGGGGATTTACATCGGTCTTGACACAACCGCCTGCGCACGCTTTACGCCCAGTA	522

Query	ATTCCGATTAACGCTTGGACCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGT	960
Sbjct	ATTCCGATTAACGCTTGGACCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGT	462
Query	CCTTATTCTTCCGGTACCGTCATCCACACCAGGTATTAACCAGTGCATTTCTTTCCGGA	1020
Sbjct	CCTTATTCTTCCGGTACCGTCATCCACACCAGGTATTAACCAGTGCATTTCTTTCCGGA	402
Query	CAAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATTGCTGGATCAGGGTT	1080
Sbjct	CAAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATTGCTGGATCAGGGTT	342
Query	GCCCCATTGTCCAAAATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAG	1140
Sbjct	GCCCCATTGTCCAAAATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAG	282
Query	TCCCAGTGTGGGTGATCGTCCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTTT	1200
Sbjct	TCCCAGTGTGGGTGATCGTCCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTTT	222
Query	ACCCACCAACTAGCTAATCAGACATCGGCCGCTCCTATAGCATGAGGCCTTGCGGTCCC	1260
Sbjct	ACCCACCAACTAGCTAATCAGACATCGGCCGCTCCTATAGCATGAGGCCTTGCGGTCCC	162
Query	CCACTTTCACCCCTCAGGTCGTATGCGGTATTAGCTAGTCTTTGACTAGTTATCCCCAC	1320
Sbjct	CCACTTTCACCCCTCAGGTCGTATGCGGTATTAGCTAGTCTTTGACTAGTTATCCCCAC	102
Query	TACAGGGCACGTTCCGATGTATTACTACCCGTTTCGCCACTCGCCGGCAGGTAGCAAGCT	1380
Sbjct	TACAGGGCACGTTCCGATGTATTACTACCCGTTTCGCCACTCGCCGGCAGGTAGCAAGCT	42
Query	ACCCCGCTGCCGTTTCGACTTGCATGTTAAG	1411
Sbjct	ACCCCGCTGCCGTTTCGACTTGCATGTTAAG	11

รูปภาคนวทที่ 12 ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวโงโซเลท RSYL-2 ที่วิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (similation) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *R. solanacearum* (Accession no. MN508408.1) ที่ความเหมือน (identity) 99 เปอร์เซนต์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	อาชีวัน คีอราเม
วัน เดือน ปีเกิด	1 กันยายน 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดยะลา ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร, 2553 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, 2567
ที่อยู่ปัจจุบัน	42/1 หมู่ที่ 5 ตำบลนุดี อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000

