บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การแยก *Pseudomonas solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพืชตระกูลมะเขือ

จากการเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเหี่ยว 3 ชนิด คือ พริกหวาน มะเขือเทศ และมะเขือม่วง จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวง 3 แห่ง มาทำการแยกเชื้อสาเหตุบนอาหาร NA พบที่มีลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ขอบเรียบ ผิวมันวาวค่อนข้างเยิ้ม (ภาพ 6) เมื่อคัดเลือกลักษณะโคโลนีดังกล่าวมาเลี้ยงบนอาหาร TZC เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ได้โคโลนีสีขาวขุน มีสีชมพูตรงกลางโคโลนี(ภาพ 7) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ *Pseudomonas solanacearum* ที่เป็น virulent strain จำนวน 8 ไอโซเลท ดังนี้ ไอโซเลท ที่ 1 (Ps. 1) แยกได้จากมะเขือม่วง (สะเมิง) ไอโซเลทที่ 2 และ 7 (Ps. 2 , Ps. 7) แยกได้จากพริกหวาน (แม่ริม) ไอโซเลทที่ 3 , 4 , 6 และ 8 (Ps. 3 , Ps. 4 . Ps. 6 และ Ps. 8) แยกได้จากมะเขือเทศ (แม่ริม) และ ไอโซเลทที่ 5 (Ps. 5) แยกได้จากมะเขือเทศ (เชียงดาว)

ภาพ 6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* เมื่อเจริญบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28 ° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ภาพ 7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* เมื่อเจริญบนอาหาร TZC ที่อุณหภูมิ 28 ° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การทดสอบ Pathogenicity ของ *Pseudomonas solanacearum* 8 ไอโซเลท

จากการทดสอบ Pathogenicity ของ *P. solanacearum*จำนวน 8 ไอโซเลท ที่ได้จากการทดลองที่ 1 ในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พันธุ์ T 276 อายุ 30 วัน โดยวิธีการแช่ราก ผลปรากฏว่า ต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ 2 - 3 วัน โดยใบล่างของพืชแสดงอาการเหี่ยวก่อน หลังจากนั้นยอดแสดงอาการเหี่ยวตามมา และแห้งตายในที่สุด (ภาพ 8) ดังนั้นจึงทำการวัดระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว หลังการปลูกเชื้อ 3 5 และ 7 วัน ได้ผล ดังนี้ Ps. 8 เป็นไอโซเลทที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวสูงสุด คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ หลังปลูกเชื้อสาเหตุเพียง แค่ 3 วัน เท่านั้น และเหี่ยว

ตายในระยะเวลาต่อมา Ps. 4 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวได้รุนแรงเช่นกัน แต่เริ่มที่ 75 % หลังปลูกเชื้อ 3 วัน และเพิ่มเป็น 100 % ในระยะเวลา 5 วัน Ps. 2 และ Ps. 7 มีความสามารถในการทำให้เหี่ยวเท่ากันคือ 100 % ในระยะเวลา 7 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ สำหรับ Ps. 5 และ Ps. 3 เป็นไอโซเลทที่มีความสามารถในการทำให้เกิดอาการเหี่ยวได้สูง 93 % หลังปลูกเชื้อสาเหตุ 7 วัน และ Ps. 6 มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวสูง 83 % เมื่อครบ 7 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ส่วน Ps. 1 ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวเลย โดยที่ลักษณะไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ดังแสดงรายละเอียดของผลการทดลองไว้ในตาราง 2

ภาพ 8 มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยว หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum* ที่ความเข้มข้น 3 X 10^{8} cfu / ml 30 นาที ที่ 7 วัน(ซ้าย) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ขวา)

ตาราง 2 เปรียบเทียบความสามารถของ *Pseudomonas solanacearum* 8 ไอโซเลท ในการ ทำให้เกิดโรคเหี่ยว ในมะเขือเทศ โดยวัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังปลูกเชื้อ เป็นเวลา 3 5 และ 7 วัน

Pseudomonas solanacearum ไอโซเลทต่างๆ	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อ [1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
ไอโซเลทที่ 8 (Ps. 8)	100	100	100 a
ไอโซเลทที่ 4 (Ps. 4)	73	100	100 a
ไอโซเลทที่ 2 (Ps. 2)	80	93	100 a
ไอโซเลทที่ 7 (Ps. 7)	80	93	100 a
ไอโซเลทที่ 5 (Ps. 5)	33	93	93 a
ไอโซเลทที่ 3 (Ps. 3)	63	83	93 a
ไอโซเลทที่ 6 (Ps. 6)	33	60	83 a
ไอโซเลทที่ 1 (Ps. 1)	0	0	0 b
ชุดควบคุม (Control)	0	0	0 b

CV = 2..87

L.S.D. p 0.01 = 42.98

L.S.D. p 0.05 = 31.25

1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี (ไอโซเลท)

ab ตัวอักษรแตกต่างกันในคอลัมท์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ที่ 95 % วิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม SPSS

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* ในมะเขือเทศ 8 พันธุ์

จากการปลูก *P. solanacearum* ไอโซเลทที่ 8 ที่ได้จากมะเขือเทศ อำเภอ แมริม ที่มี Pathogenicity สูงสุดกับมะเขือเทศ 8 พันธุ์ ผลปรากฏว่า ต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวอย่างรวดเร็ว หลังปลูกเชื้อ 3 วัน โดยใบที่อยู่ตอนล่างเหี่ยวและลู่ลงก่อนต่อมาใบยอดเริ่มเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด เมื่อทำการประเมินความรุนแรงของโรค คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังการปลูกเชื้อที่ 3 5 และ 7 วัน พบว่ามะเขือเทศทั้ง 8 พันธุ์ ไม่มีพันธุ์ใดเลยที่แสดงอาการต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว โดยทุกพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่า 80 % ดังนี้ มะเขือเทศชนิดผลเล็ก จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ มะเขือเทศเชอรี่พันธุ์ Pep. T.K. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวสูงสุด คือ 97.17 % หลังปลูกเชื้อสาเหตุแค่ 3 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวคงที่จนถึง 7 วัน พันธุ์ Sweetic Peto Seed มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวที่ 94.50 % และเพิ่มขึ้นเป็น 97.8 % ในระยะเวลา 7 วันหลังการปลูกชื้อสาเหตุ ส่วนพันธุ์ Santa # 0392 พันธุ์ Red Sweet K.N. และพันธุ์ Sweet Keneko มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวต่ำลงตามลำดับ คือ 94.50 , 92.10 และ 90.50 % หลังปลูกเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน สำหรับมะเขือเทศลูกโต 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Master No. 2 T.K. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 93.83 % ส่วนพันธุ์ Taiwan และ Royesta R.S. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 88.83 % และ 84.50 % หลังปลูกเชื้อสาเหตุ 7 วันตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าทุกพันธุ์อ่อนแอต่อการเกิดโรคเหี่ยว ซึ่งในแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื้อมั่นที่ 95 % ดังรายละเอียดในตาราง 3

ตาราง 3 เปรียบเทียบการตอบสนองของมะเขือเทศ 8 พันธุ์ ต่อเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* (Ps. 8) ในการทำให้เกิดโรคเหี่ยว

พันธุ์มะเขือเทศ	เปอร์เซนต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ [1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
พันธุ์ ชนิดผลเล็ก			
1. Pep. T.K.	97.17	97.17	97.17 a
2. Sweetic Peto Seed	94.50	94.50	97.83 a
3. Santa # 0392	94.50	94.50	94.50 a
4. Red Sweet K.N.	86.17	91.17	92.10 a
5. Sweet Keneko	89.50	90.50	90.50 a
พันธุ์ชนิดผลโต			
1. Master No.2	91.67	92.83	93.83 a
2. Taiwan	88.83	88.83	88.83 a
3. Royesta R.S.	72.17	84.50	84.50 a

1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

a ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิเคราะห์ผลแบบ SPSS

4. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดิน

จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคจาก ดิน 5 แหล่ง ในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย คือ อำเภอ แม่ริม แม่แตง หางดง เชียงดาว และ เวียงป่าเป้า โดยวิธี Dilution Plate บนอาหาร 3 ชนิด คือ NA , PDA และ KB พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมากที่เป็นทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย เมื่อคัดเลือกเชื้อรา และแบคทีเรียที่ได้จากลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน และ การเจริญบนอาหาร KB เมื่อตรวจดูด้วย แสง UV สามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ 165 ไอโซเลท โดยแบ่งตามแหล่งที่พบดังนี้ คือ

ดินจากอำเภอ แม่ริม จังหวัด เชียงใหม่ (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หนองหอย) พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 45 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา 6 ไอโซเลท แบคทีเรีย 33 ไอโซเลท และ fluorescent pseudomonads จำนวน 6 ไอโซเลท

ดินจากอำเภอ แม่แตง จังหวัด เชียงใหม่ (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่หลอด) พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 31 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา 10 ไอโซเลท แบคทีเรีย 12 ไอโซเลท และ fluorescent pseudomonads 9 ไอโซเลท

ดินจากอำเภอ หางดง จังหวัด เชียงใหม่ (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ทุ่งเรา) พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 24 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา 5 ไอโซเลท แบคทีเรีย 11 ไอโซเลท และ fluorescent pseudomonads 8 ไอโซเลท

ดินจากอำเภอเชียงดาว จังหวัด เชียงใหม่ (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ห้วยลึก) พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 31 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา 9 ไอโซเลท แบคทีเรีย 8 ไอโซเลท และ fluorescent pseudomonads 14 ไอโซเลท

ดินจากอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัด เชียงราย (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่ปูนหลวง) พบเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 34 ไอโซเลท เป็น เชื้อรา 6 ไอโซเลท แบคทีเรีย 20 ไอโซเลท และ fluorescent pseudomonads 8 ไอโซเลท

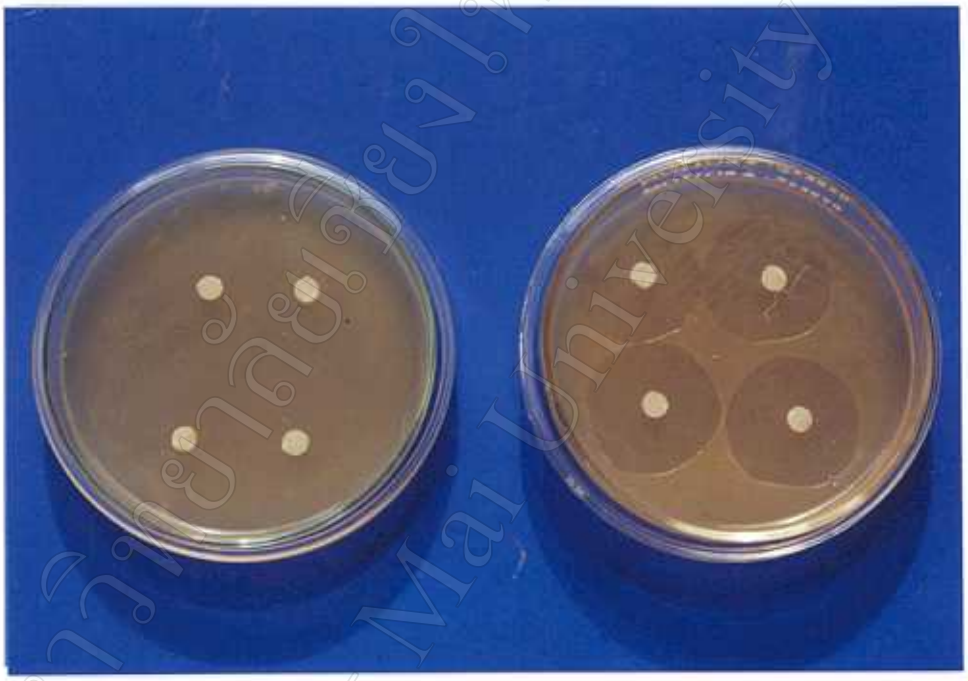
5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค จำนวน 165 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของ *P. solanacearum* โดยวิธี culture disc ในกรณีของเชื้อรา และ disc diffusion ในกรณีของแบคทีเรีย บนอาหาร NA พบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 40 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสาเหตุโรคเหี่ยวที่ระดับต่างๆ กัน จาก

การวัดระดับความกว้างของ clear zone ดังต่อไปนี้ คือ ดินจากอำเภอ แม่ริม พบเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. solanacearum* จำนวน 18 ไอโซเลท ดังนี้ ไอโซเลท ที่ 19 มีความกว้างของ clear zone สูงสุด คือ 2.45 ซม. (ภาพ 9) ไอโซเลทที่ 39 และ 14 มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ มีความกว้างของ clear zone 2.21 ซม. (ภาพ 10) และ 2.11 ซม. (ภาพ 11) ตามลำดับ ส่วนในไอโซเลทอื่นๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญต่ำมาก กล่าวคือปรากฏความกว้างของ clear zone สูง คือ 1.60 ซม.ในไอโซเลทที่ 3 และต่ำสุดคือ 0.21 ซม.ในไอโซเลท ที่ 26 สำหรับดินจากอำเภอ แม่แตง พบเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *P. solanacearum* ในระดับต่ำ จำนวน 9 ไอโซเลท ปรากฏความกว้างของ clear zone สูงสุดเพียง 0.81 ซม. ในไอโวเลทที่ 26 ส่วนไอโซเลทอื่นๆอีก 8 ไอโซเลทมีความกว้างของ clear zone จาก 0.48 ซม. ไปจนถึง 0.01 ซม. ส่วนดินจากอำเภอ หางดง พบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ ของเชื้อ *P. solanacearum* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งทั้งหมดมีประสิทะภาพต่ำใกล้เคียงกับที่แยกได้จากอำเภอแม่แตง คือ ไอโซเลท ที่ 9 มีความกว้างของ clear zone สูงสุด คือ 0.95 ซม. และ ไอโซเลท ที่ 8 ให้ความกว้างของ clear zone ต่ำสุด คือ 0.01 ซม. และดินจากอำเภอ เชียงดาว พบเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุดังกล่าว ในระดับต่ำมาก จำนวน 7 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท 16 ให้ความกว้างของ clear zone สูงสุดเพียง 0.67 ซม. เท่านั้น ในขณะที่ไอโซเลท อื่นๆให้ความกว้างของ clear zone 0.39 ซม. จนถึง 0.01 ซม. สำหรับจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินในอำเภอ เวียงป่าเป้า มีเพียงไอโซเลทเดียว คือ ไอโซเลท ที่ 9 ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคในระดับต่ำมากคือ ให้ความกว้างของ clear zone เพียง 0.15 ซม. ดังแสดงรายละเอียดของผลการทดลองไว้ในตาราง 4

6. การบ่งบอกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค

จากการนำ 3 ไอโซเลทคือ RH 14 , 19 และ 39 ที่แยกได้จากอำเภอ แม่ริม ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. solanacearum* ไปจัดจำแนกชนิดตามระบบ API พบว่าเป็น *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ตามลำดับ โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีดังนี้



ภาพ 9 ความกว้างของ clear zone ที่เกิดจากแบคทีเรีย ไอโซเลท ที่ 19 (RH 19) จาก อำเภอ แม่ริม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* บนอาหาร NA (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทน (ซ้าย)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพ 10 ความกว้างของ clear zone ที่เกิดจากแบคทีเรีย ไอโซเลท ที่ 39 (RH 39) จาก อำเภอ แม่ริม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* บนอาหาร NA (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทน (ซ้าย)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

ภาพ 11 ความกว้างของ clear zone ที่เกิดจากแบคทีเรีย ไอโซเลท ที่ 14 (RH 14) จาก อำเภอ แม่ริม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* บนอาหาร NA (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทน (ซ้าย)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

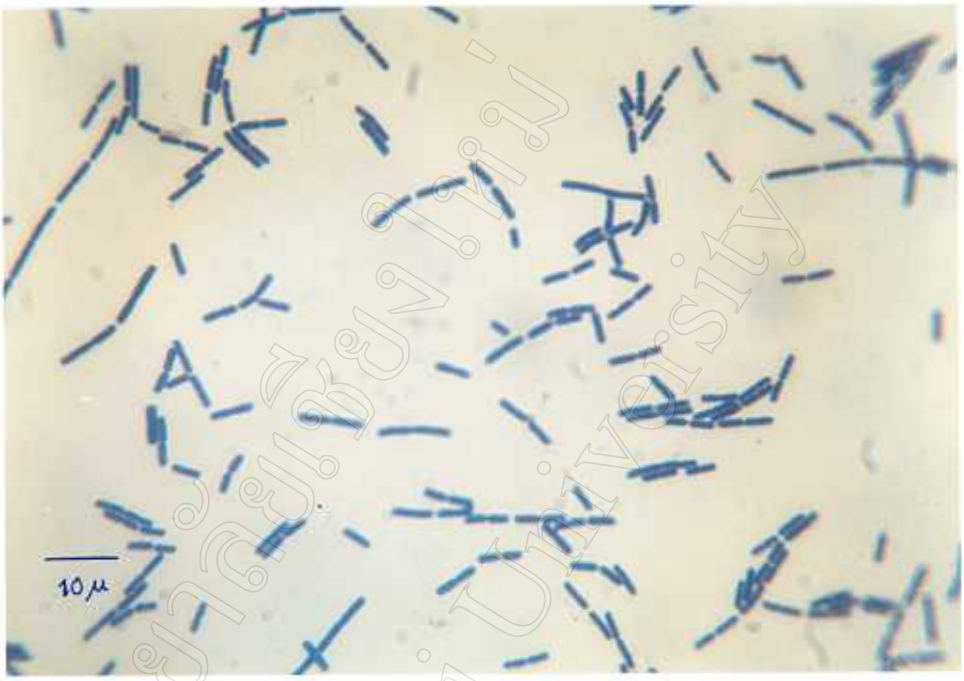
ตาราง 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ที่แยกได้จากดิน 5 แหล่ง ในการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยว โดยวัดความกว้างของ clear zone เป็นเซนติเมตร และเรียงลำดับประสิทธิภาพสูงสุดไปต่ำสุด

อ. แม่ริม		อ. แม่แตง		อ. หางดง		อ. เชียงดาว		อ. เวียงป่าเป้า	
ไอโซเลท	clear zone	ไอโซเลท	clear zone	ไอโซเลท	clear zone	ไอโซเลท	clear zone	ไอโซเลท	clear zone
RH19	2.45	MR26	0.81	TU9	0.95	HU16	0.67	MP9	0.15
RH39	2.21	MR1	0.48	TU10	0.29	HU19	0.39		
RH14	2.11	MR15	0.25	TU3	0.17	HU17	0.37		
RH13	1.60	MR4	0.23	TU12	0.12	HU12	0.27		
RH29	1.56	MR26	0.16	TU14	0.11	HU15	0.21		
RH1	1.38	MR9	0.10	TU8	0.07	HU6	0.12		
RH20	1.32	MR10	0.10			HU2	0.00		
RH11	1.23	MR27	0.01						
RH24	0.78								
RH34	0.58								
RH35	0.54								
RH37	0.52								
RH38	0.50								
RH16	0.48								
RH2	0.45								
RH18	0.33								
RH28	0.23								
RH26	0.21								

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Bacillus cereus เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปรากฏโคโลนีสีขาวขุ่น รูปร่างไม่แน่นอน ค่อนข้างแบน ขอบโคโลนีค่อนข้างหยัก (ภาพ 12) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์มีลักษณะเป็นท่อน (rod shape) ขนาดประมาณ 1.0 - 1.2 x 3.0 - 3.5 ไมครอน หัวท้ายค่อนข้างเหลี่ยมต่อกันเป็นเส้น เมื่อย้อมสีด้วยวิธีแกรม พบว่าเป็นแกรมบวก (ภาพ 13) ส่วนผลการตรวจสอบทางชีวเคมี พบว่ามีความสามารถในการสร้างกรดจากแหล่งคาร์บอนต่างๆ ดังนี้ น้ำตาล ribose , glucose , fructose , N - acetyl - glucosamine , arbutin , esculin , salitin , maltose , trehalose , starch และ glycogen นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการย่อย arginin และ gelatin ได้ รวมทั้งสามารถ Catalas citrate

ภาพ 12 ลักษณะโคโลนีของ *Bacillus cereus* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28 ° C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

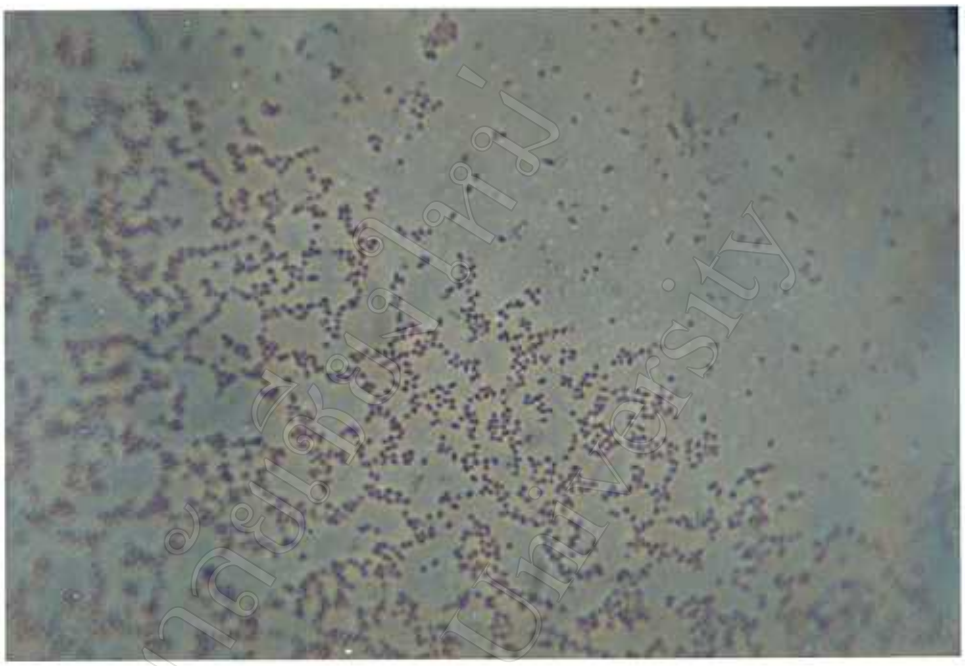


ภาพ 13 ลักษณะเซลล์ของ*Bacillus cereus* เมื่อย้อมสีด้วยวิธีแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ขนาด 1.0 - 1.2 x 3.0 - 3.5 ไมครอน ที่อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหาร NA

Pseudomonas aeruginosa เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีขาวขุ่น รูปร่างไม่แน่นอน เมื่ออายุมากขึ้นโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลรวมทั้งเปลี่ยนสีวุ้นอาหารเป็นสีน้ำตาล (ภาพ 14) และเมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์มีลักษณะเป็นท่อน หัวท้ายมน ขนาดเล็กประมาณ 0.5 - 0.6 x 1.5 ไมครอน และเมื่อย้อมแกรม พบว่าเป็นแกรมลบ (ภาพ 15) รวมทั้งมีความสามารถในการเรืองแสงสีเขียวเหลือง เมื่อตรวจสอบด้วยแสง UV บนอาหาร KB จากนั้นนำมาตรวจสอบทางชีวเคมี พบว่ามีความสามารถในการ Reduction nitrate สามารถย่อย glucose และ arginin ได้ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาล glucose , maltose , manitol , N - acetyl - glucosamine , gluconate , caprate , adipate , mallate และ citrate ได้ และมีความสามารถในการ oxidise cytochrome

ภาพ 14 ลักษณะโคโลนีของ *Peudomonas aeruginosa* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28° C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

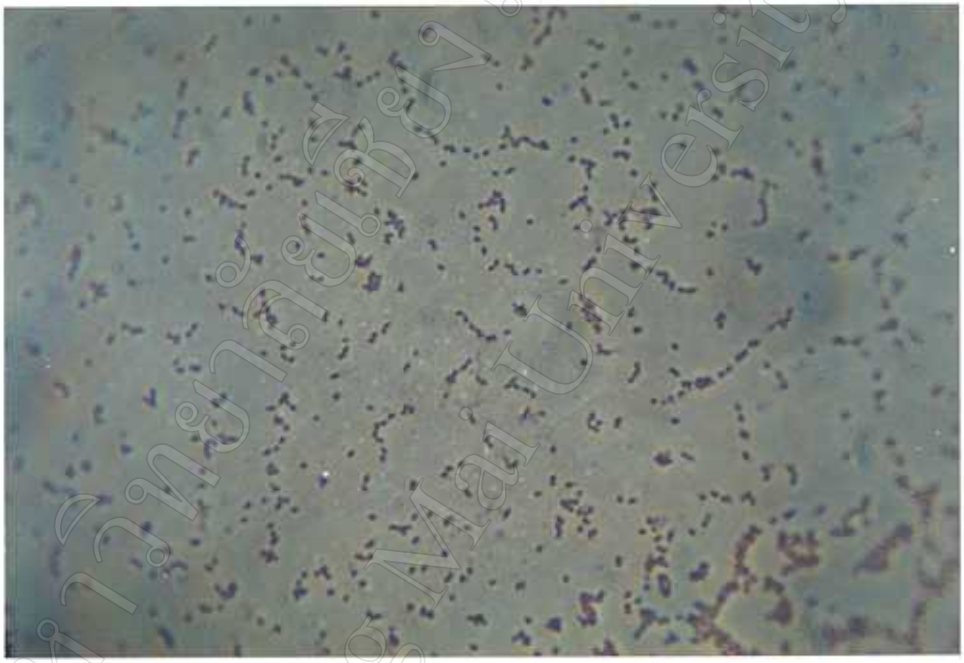


ภาพ 15 ลักษณะเซลล์ของ *Peudomonas aeruginosa* เมื่อย้อมสีด้วยวิธีแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ขนาดประมาณ 0.5 - 0.6 x 1.5 ไมครอน ที่อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหาร NA

Pseudomonas putida เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีขาวขุ่นค่อนข้างนูน รูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบไม่สามารถเปลี่ยนสีวุ้นอาหารได้ (ภาพ 16) และมีความสามารถในการเรืองแสงสีเขียวเหลืองเมื่อตรวจสอบด้วยแสง UV บนอาหาร KB และเมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์มีลักษณะเป็นท่อน หัวท้ายมน ขนาดเล็ก และเมื่อย้อมสีแกรม พบว่าเป็นแกรมลบ (ภาพ 17) จากนั้นเมื่อนำมาทดสอบทางชีวเคมี พบว่ามีความสามารถในการย่อย arginin สามารถใช้ glucose , mannose , gluconate , caprate , mallate , Phenyl - acetate นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการ ferment และ oxidise glucose , inositol , sorbitol , rhamnose , milibiose , amygalin รวมทั้งสามารถใช้ citrate รายละเอียดของคุณสมบัติทางชีวเคมีของทั้ง 3 ชนิด แสดงไว้ในตาราง 5

ภาพ 16 ลักษณะโคโลนีของ *Peudomonas putida* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28° C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ©Chiang Mai University



ภาพ 17 ลักษณะเซลล์ของ *Peudomonas putida* เมื่อย้อมสีด้วยวิธีแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหาร NA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 5 ปฏิกิริยาทางเคมีที่แสดงคุณสมบัติเฉพาะของ 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ตามระบบ API (Automatic Product Identification) ที่อุณหภูมิ 37 ° C

ชนิดของสารเคมีที่ทำปฏิกิริยา	ผลของปฏิกิริยา *		
	B. cereus	*P. aeruginosa*	*P. putida*
Gram reaction	+ ve	- ve	- ve
Fermentative production of acid from			
- glycerol	-	-	-
- crythritol	-	-	-
- D - arabinose	-	-	-
- L - arabinose	-	-	-
- ribose	+	-	-
- D - xylose	-	-	-
- adonitol	-	-	-
- β - methyl - D - xyloside	-	-	-
- galactose	-	-	-
- glucose	+	+	-
- fructose	+	-	-
- mannose	-	-	-
- sorbose	-	-	-
- rhamnose	-	-	-
- dulcitol	-	-	-
- mannitol	-	-	-
- sorbitol	-	-	-
- α - methyl - D - mannoside	-	-	-
- α - methyl - D - glucoside	-	-	-

ตาราง 5 (ต่อ)

ชนิดของสารเคมีที่ทำปฏิกิริยา	ผลของปฏิกิริยา		
	B. cereus	*P. aeruginosa*	*P. putida*
- N - acetyl - glucosamide	+	-	-
- amygalatin	-	-	-
- arbutin	+	-	-
- esculin	+	-	-
- salitin	+	-	-
- cellobiose	-	-	-
- maltose	+	-	-
- sucrose	-	-	-
- trehalose	+	-	-
- inulin	-	-	-
- melezilose	-	-	-
- raffinose	-	-	-
- starch	+	-	-
- glycogen	+	-	-
- xylitol	-	-	-
- gentiobiose	-	-	-
- D - turanose	-	-	-
- D - lyxose	-	-	-
- D - tagalose	-	-	-
- D - fucose	-	-	-
- L - fucose	-	-	-
- D - arbinose	-	-	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 5 (ต่อ)

ชนิดสารเคมีที่ทำปฏิกิริยา	ผลของปฏิกิริยา		
	B. cereus	*P. aeruginosa*	*P. putida*
- L - arabinose	-	-	-
- 2 - keto - gluconate	-	-	-
- 5 - keto - gluconate	-	-	-
- 2 - keto - gluconate	-	-	-
- 5 - keto - gluconate	-	-	-
β - galactosidase production of - p - nitro - phenyl - β - D - galactopyranoside	-	-	-
- ortho - nitro - phenyl - galactoside	-	-	
Arginine dihydrolase	+	+	+
Lysine dicarboxylase	-	-	-
Ornithine dicarboxylase	-	-	-
Citrate utilisation	+-	-	+
H_2S production	-	-	-
Urease production	-	-	-
Trytophane deaminase	-	-	-
Indole production of trytophane	-	-	-
Hydrolysis of gelatin	+	+	-
Catalase	+	-	-
Reduction of nitrate	-	+	-
Assimilation of - glucose	-	+	+
- arabinose	-	-	-
- manose	-	+	+

ตาราง 5 (ต่อ)

ชนิดสารเคมีที่ทำปฏิกิริยา	ผลของปฏิกิริยา		
	B. cereus	*P. aeruginosa*	*P. putida*
- N - acetyl - glucosamine	-	-	-
- maltose	-	+	-
- adipate	-	+	--
- malate	-	+	+
- citrate	-	+	-
Acetoin production (VP test)	-	-	-
Fermentation/ / Oxidation			
- glucose	-	-	+
- inositol	-	-	+
- sorbitol	-	-	+
- rhamnose	-	-	+
- sucrose	-	-	-
- milibiose	-	-	+
- amygalin	-	-	+

* + ve = Gram positive bacteria

- ve = Gram negative bacteria

\+ = Positive reaction

\- = Negative reaction

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพ ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์ Pep T.K. ที่เกิดจาก *P. solanacearum* ในเรือนทดลอง (ภาพ 18) พบว่า

7.1 การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคก่อนปลูกเชื้อสาเหตุ

ในกรรมวิธีการแช่รากมะเขือเทศลงใน suspension ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการแช่รากใน inoculum ของเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 30 นาที เช่นเดียวกัน พบว่าต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวในใบล่างก่อน หลังจากนั้นยอดแสดงอาการตามมา โดยในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวสูงถึง 58.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ 35 วันหลังปลูกเชื้อสาเหตุ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลงได้ โดยพบไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ที่ 35 วัน และเมื่อเทียบความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค กับการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว (ภาพ 19) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงไว้ในตาราง 6

7.2 การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคหลังปลูกเชื้อสาเหตุ

การแช่รากมะเขือเทศลงใน suspension ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 30 นาที หลังจากแช่รากลงใน inoculum ของเชื้อ *P.solanacearum* เป็นเวลาเท่ากันแล้วนำไปปลูก พบว่า ต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวตั้งแต่สัปดาห์แรกหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ในทุกกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อลงไป โดยในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 58.33 % ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *B. cereua* และ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคทั้ง 3 ชนิดร่วมกัน สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด คือ ลดลงเหลือ 22.22 % ในขณะที่กรรมวิธีการใช้เชื้อ *P. putida* และ*P. aeruginosa* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในระดับสูง คือ 28.33 % และ 41. 67 % ตามลำดับ ที่ 35วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % กับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ดังแสดงในตาราง 7

ภาพ 18 สภาพต้นมะเขือเทศ พันธุ์ Pep. T.K. ภายใต้สภาพเรือนทดลองที่ งานอารักขาพืชบนที่สูง มูลนิธิโครงการหลวง

ภาพ 19 เปรียบเทียบต้นมะเขือเทศ พันธุ์ Pcp. T.K. ที่ได้รับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค คือ *Bacillus cereus* (ก) , *Pseudomonas aeruginosa* (ข) และ *P. putida* (ค) ที่ผ่านการแช่ราก นาน 30 นาที ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุกับต้นที่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว (ง) และชุดควบคุม (จ)

ตาราง 6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด ในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum*

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control	0	0	0	0	0 a
2. *P. putida*	0	0	0	0	0 a
3. *P. aeruginosa*	0	0	0	0	0 a
4. *B. cereus*	0	0	0	0	0 a
5. *P. solanacearum*	19.94	30.55	40.00	52.12	58.33 c
6. *P. putida* และ *P. solanacearum*	0	0	18.33	24.45	24.45 b
7. *P. aeruginosa* และ *P. solanacearum*	0	18.89	21.12	22.23	23.33 ab
8. *B. cereus* และ *P. solanacearum*	0	19.94	19.94	22.22	23.22 ab

CV = 2.92 L.S.D. p 0.01 = 17.06 L.S.D p 0.05 = 12.81

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 7 เปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด ในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคหลังปลูกเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum* 30 นาที

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control	0	0	0	0	0 a
2. *P. putida*	0	0	0	0	0 a
3. *P. aeruginosa*	0	0	0	0	0 a
4. *B. cereus*	0	0	0	0	0 a
5. *P. solanacearum*	19.94	30.55	40.00	52.12	58.33 d
6 *P. solanacearum* และ *P. aeruginosa*	22.22	22.22	27.78	33.88	41.47 c
7. *P. solanacearum* และ *P. putida*	19.94	22.12	22.23	22.23	26.33 b
8. *P. solanacearum* และ *B.* cereus + P. *aeruginosa* + *P. putida*	19.94	19.94	22.22	22.22	22.22 ab
9. *P. solanacearum* และ *B. cereus*	19.94	19.94	19.94	19.94	22.22 ab

CV = 2.75 L.S.D. p 0.01 = 17.89 L.S.D. p 0.05 = 13.62

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

7.3 การราดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคลงในวัสดุปลูก 3 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ

การราดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงในวัสดุปลูก 3 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโดยวิธีการแช่รากใน inoculum ของเชื้อสาเหตุ 30 นาที ผลปรากฏว่า จากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคทั้ง 3 ชนิด ในกรรมวิธีนี้ สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว และชะลอการเกิดอาการของโรคได้มากพอควร โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *P. aeruginosa* สามารถชะลอการเกิดโรคจนถึง 28 วันหลังปลูกเชื้อสาเหตุ และพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 25 % เท่านั้น ที่ 35 วัน ในขณะที่เชื้อ *P. putida* , *B. cereus* และเชื้อผสมทั้ง 3 ชนิด สามารถชะลอ การเกิดโรคได้แค่ 21 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 25.00 , 19.45 และ 20.00 % ตามลำดับที่ 35 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงไว้ในตาราง 8

7.4 การแช่รากมะเขือเทศลงในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคร่วมกับเชื้อสาเหตุ

การแช่รากมะเขือเทศลงใน suspension ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิดร่วมกับเชื้อสาเหตุ *P. solanacearum* เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปปลูก พบว่า การปลูกเชื้อด้วยวิธีดังกล่าว สามารถลดเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคเหี่ยวได้เช่นกัน โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *P. aeruginosa* และ *B. cereus* มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยวสูงสุดเพียง 25 % เท่านั้น สำหรับเชื้อ *P. putida* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว 33.33 % ในขณะที่กรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวสูงถึง 58.33 % ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงไว้ในตาราง 9

7.5 การแช่เมล็ดในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ

การแช่เมล็ดลงใน suspension ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 30 นาที ก่อนนำไปแช่ใน inoculum ของเชื้อสาเหตุ 30 นาทีเช่นเดียวกัน ผลปรากฏว่า ในกรรมวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคทั้ง 3 ชนิด คือ *B. cereus* , *P. aeruginosa* และ *P. putida* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใกล้เคียงกัน คือ 44 .00 , 38.89 และ 33.33 % ตามลำดับ ที่ 35 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ ในขณะที่กรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเหี่ยวอย่างเดี่ยว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวสูงถึง 58.33 % ซึ่งมีความแตกต่างกันางมนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด ในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธีการราดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคลงในวัสดุปลูก 30 มิลลิลิตร 3 วันก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum*

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control	0	0	0	0	0 a
2. *P. putida*	0	0	0	0	0 a
3. *P. aeruginosa*	0	0	0	0	0 a
4. *B. cereus*	0	0	0	0	0 a
5. *P. solanacearum*	19.94	30.55	40.00	52.12	58.33 b
6. *P. aeruginosa* และ *P. solanacearum*	0	0	0	14.45	25.00 a
7. *P. putida* และ *P. solanacearum*	0	0	21.12	22.23	25.00 a
8. *B. cereus* ผสม *P. aeruginosa* ผสม *P. putida* ผสม *P. solanacearum*	0	0	20.00	20.00	20.00 a
9. *B. cereus* และ *P. solanacearum*	0	0	19.45	19.45	19.45 a

CV = 3.12 L.S.D. p 0.01 = 13.00 L.S.D. p 0.05 = 11.09

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด ในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคและเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum* ร่วมกัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control	0	0	0	0	0 a
2. *P. putida*	0	0	0	0	0 a
3. *P. aeruginosa*	0	0	0	0	0 a
4. *B. cereus*	0	0	0	0	0 a
5. *P. solanacearum*	19.94	30.55	40.00	52.12	58.33 c
6. *P. putida* ผสม *P. solanacearum*	0	27.78	27.78	33.33	33.33 b
7. *P. aeruginosa* ผสม *P. solanacearum*	0	0	18.89	25.00	25.00 ab
8. *B. cereus* ผสม *P. solanacearum*	0	21.12	25.00	25.00	25.00 ab

CV. = 2.74 L.S.D. p 0.01 = 19.55 L.S.D. p 0.05 = 14.68

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 10 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด ในการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่เมล็ดในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 30 นาที ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ *Pseudomonas solanacearum*

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control	0	0	0	0	0 a
2. *P. putida*	0	0	0	0	0 a
3. *P. aeruginosa*	0	0	0	0	0 a
4. *B. cereus*	0	0	0	0	0 a
5. *P. solanacearum*	19.94	30.55	40.00	52.12	58.33 c
6. *P. putida* และ *P. solanacearum*	0	0	33.33	33.33	33.33 b
7. *P. aeruginosa* และ *P. solanacearum*	0	0	38.89	38.89	38.89 b
8. *B. cereus* และ *P. solanacearum*	0	0	44.44	44.44	44.44 b

CV = 2.43 L.S.D. p 0.01 = 22.52 L.S.D. p 0.05 = 16.91

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

จากการเปรียบเทียบกรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 3 ชนิด คือ *B. cereus* , *P. aeruginasa* และ *P. putida* พบว่าทุกกรรมวิธี สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้ โดยไม่มีความแตกต่างกัน ระหว่างชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่ใช้ ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ จุลินทรีย์ต่อต้านโรคตัวที่ 1 คือ *B. cereus* พบว่าในกรรมวิธีการราดเชื้อลงในวัสดุปลูก 3 วันก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ , การแช่รากใน *B. cereus* ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ รวมทั้งการแช่รากใน *B. cereus*ร่วมกับเชื้อสาเหตุ สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวลงได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่เกิน 25 % ในขณะที่กรรมวิธีการแช่เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 44.40 % ที่ 35 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ สำหรับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคตัวที่ 2 คือ *P. aeruginosa* พบว่ามีผลการทดลองใกล้เคียงกับการใช้เชื้อ *B. cereus* คือสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้เช่นเดียวกัน โดยกรรมวิธี การแช่รากใน *P. aeruginosa* ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ และการแช่รากร่วมกับเชื้อสาเหตุ รวมทั้งการราดเชื้อ *P. aeruginosa* 3 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้ 25 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ *P. aeruginosa* หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ และการแช่เมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 41.67 และ38.89 % ตามลำดับ ที่ 35 วันหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค *P. putida* ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ และการราดเชื้อ *P. putida* ลงในวัสดุปลูก 3 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวได้ เช่นเดียวกันโดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวไม่เกิน 30 % หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ 35 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับกรรมวิธีการแช่เมล็ด และการแช่รากใน *P. putida* ร่วมกับเชื้อสาเหตุ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 33.33 % และเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงในตาราง 11

8. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ที่เกิดจาก *P. solanacearum* ในสภาพแปลงปลูก ที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หนองหอย อำเภอ แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพ 20)พบว่า ในทุกกรรมวิธี มะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยว (ภาพ 21) แต่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวต่ำมาก ดังนี้ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *B. cereus* พบ

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค7เหี่ยวที่ 20 วันหลังการย้ายปลูกเพียง 0.3 % เท่านั้น (ภาพ 22) จากนั้นจึงมีการพัฒนาการเกิดโรคสูงขึ้นเป็น 14.36 % ที่ 60 วันหลังการย้ายปลูก เช่นเดียวกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมทั้ง 3 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวที่ 19.50 % ซึ่งสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 21.67 % สำหรับการใช้เชื้อ *P. aeruginosa* พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวในระดับต่ำเช่นกัน คือที่ 0.3 % 10 วันหลังการย้ายปลูก และเพิ่มขึ้นเป็น 30. 50 % ที่ 60 วันหลังย้ายปลูก เช่นเดียวกับการใช้เชื้อ *P. putida* ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระดับต่ำคือ 1 % ที่ 10 วัน และ 22.11 %ที่ 60 วันหลังย้ายปลูก ซึ่งเมื่อนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % กับชุดควบคุม ดังแสดงในตาราง 12 จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักผลผลิตทั้ง 5 กรรมวิธีพบว่าน้ำหนักผลผลิตใกล้เคียงกัน ประมาณ 1,400 - 1,500 กรัมต่อต้น ดังตาราง 13

ภาพ 20 สภาพโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองเมื่อมะเขือเทศ มีอายุ 20 วันหลังย้ายปลูก ที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หนองหอย อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

ภาพ 21 เปรียบเทียบต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยว (ขวา) ที่เกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* เข้าทำลาย กับต้นปกติ (ซ้าย) หลังย้ายปลูก 20 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพ 22 สภาพต้นมะเขือเทศ พันธุ์ Pep. T.K. ที่อายุ 30 วันหลังย้ายปลูก เมื่อได้รับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค *Bacillus cereus* (ก) , *Pseudomonas aeruginosa* (ข) , *P. putida* (ค) และ ชุดควบคุม (ง)

ตาราง 11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ในการลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในกรรมวิธีต่างๆ หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ นาน 35 วัน [1]		
	B. cereus	*P. aeruginosa*	*P. putida*
1. แช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค	0 a	0 a	0 a
2. ราดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 วันก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ	19.45 a	25.00 a	25.00 ab
3. แช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ	23.33 a	23.22 a	24.45 ab
4. แช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ	22.22 a	41.67 c	28.33 bc
5. แช่รากในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคร่วมกับเชื้อสาเหตุ	25.00 a	25.00 ab	33.33 ab
6. แช่เมล็ดในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ	44.44 b	38.89 bc	33.33 c

CV = 4.89

L.S.D. p 0.01 = 15.88

L.S.D. p 0.05 = 12.05

1 เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง 12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida* ในการลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พันธุ์ Pep T.K. ที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* ในสภาพแปลงปลูก ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2541 - มีนาคม 2542

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ [1]				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	45 วัน	60 วัน
1. *B. cereus*	0	0.3	1.83	10.83	14.67 a
2. *P. aeruginosa*	0.3	0.5	9	9	30.50 a
3. *P. putida*	1	2.5	10.33	11.67	22.11 a
4.*B. cereus* ผสม *P. aeruginosa* ผสม *P. putida*	0.3	3	10.16	16.33	19.50 a
5. Control	0.6	0.83	5.83	9.67	21.67 a

CV = 3.75

1 เฉลี่ยจาก 6 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

abc อักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการวิเคราะห์ ผลแบบ SPSS (Statistical Package for the Social Science)

ตาราง 13 เปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตของมะเขือเทศ พันธุ์ PepT.K. เมื่อได้รับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *P. putida*

กรรมวิธี	น้ำหนักผลผลิตต่อต้น [1] (กรัม)
1. *B. cereus*	1400
2. *P. aeruginosa*	1400
3. *P. putida*	1400
4. B. cereus ผสม *P. aerugonosa* ผสม *P. putida*	1450
5.. Control	1570

1 เฉลี่ยจาก 6 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University