

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างโรคทางดินของมะเขือเทศจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่โครงการขยายผลโครงการหลวงสบโขง ตำบลสบโขง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีกบประมาณปัญหาเกี่ยวกับโรคพืชในช่วงระยะต้นกล้า และต้นโตตั้งแต่เริ่มออกดอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต ต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคทางดิน จะพบว่าบริเวณโคนต้นติดดินนั้น จะมีลักษณะเป็นรอยช้ำสีน้ำตาล โดยรอบโคนต้น ใบและยอดเหี่ยวเฉา รากเน่า โคนเน่า บริเวณโคนต้นบริเวณระดับดินอาจพบเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมอยู่ และทำการแยกเชื้อสาเหตุโรค พบเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและโคนเน่า เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลือง (Fusarium wilt) และเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt)

การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดินรอบรากมะเขือเทศและพริกกะเหรี่ยง โดยวิธี soil dilution plate สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ทั้งหมดจำนวน 33 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียที่แยกได้มีลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท คือ CMM11 และ CMM7 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ดี ส่วนเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพที่ดีจำนวน 3 ไอโซเลท คือ TKC1, TKC2 และ CMM5 และพบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพียงไอโซเลทเดียว คือ TKC1 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดีที่สุด

จากนั้นได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 33 ไอโซเลท มาศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ 6 ชนิด คือ เซลลูเลส ฟอสฟาเตส ไคตินเนส อะไมเลส ยูรีเอส และแลคคาเอส พบว่ามีแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ คือ TKC1, TKC2, TKC3, TKC4, TKC10, TKC11, CMM7, CMM13 และ CMM14 และการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเตสมีเพียงแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทเดียว คือ CMM13 และพบว่าไม่มีแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทใด ๆ เลยที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสในการทดลองครั้งนี้ สำหรับในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส พบว่ามีแบคทีเรียปฏิปักษ์ 25 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตได้ คือ TKC1, TKC3, TKC4, TKC5, TKC6, TKC7, TKC8, TKC9, TKC10, TKC11, TKC12, CMM1,

CMM2, CMM3, CMM4, CMM5, CMM7, CMM8, CMM11, CMM13, CMM15, CMM16, CMM17, CMM19 และ CMM20 และแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ยูรีเอส และแคตาเลสได้

จากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค และมีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ดี จำนวน 5 ไอโซเลท คือ TKC1, TKC7, TKC10, CMM11 และ CMM13 มาทดสอบประสิทธิภาพต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม รวมทั้งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งก็ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกไม่ส่งผลกระทบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ จากนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทดังกล่าว มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผง สารละลายเข้มข้น และสารละลายน้ำมัน เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Dual Culture พบว่าสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ดีกว่าสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบสารละลายเข้มข้น และสารละลายน้ำมัน โดยสูตรสารชีวภัณฑ์ T01R มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ทั้งสามในสภาพห้องปฏิบัติการ และมีต้นทุนในการผลิตที่ไม่สูงเมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ จึงได้คัดเลือกสูตรสารชีวภัณฑ์ T01R มาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเมื่อมีการใช้สารชีวภัณฑ์ T01R กับการทดสอบการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* และเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนต้นมะเขือเทศ พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้สูตรสารชีวภัณฑ์ก่อนและหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ช่วยลดระดับการเกิดโรคได้ดี โดยทั้งสองกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ในการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* แสดงว่าการใช้สารชีวภัณฑ์นี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคได้ดีกว่าการกำจัดโรค และสำหรับการทดสอบกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* และเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าทั้งสองกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่าการใช้สารชีวภัณฑ์นี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรค และการกำจัดโรคได้ไม่แตกต่างกัน และสำหรับสารชีวภัณฑ์รูปแบบผงสูตร C13R ที่พบว่ามีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ดี คือมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเตสได้ เมื่อนำมาทดสอบกับต้นมะเขือเทศ พบว่าไม่ทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติ และยังช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นมะเขือเทศได้ดี โดยสังเกตจากความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้น ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมน้ำกลั่น

หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท TKC1 มาจัดจำแนกชนิด พบว่าเป็นเชื้อ *B. subtilis/amyloliquefaciens* และนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท คือ TKC1, TKC7, TKC10, CMM11 และ CMM13 มาตรวจสอบตำแหน่งของยีนที่สร้างสาร subtilosin โดยอาศัยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ sboAFwd และ sboARev พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท TKC1, TKC10 และ CMM11 ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1500 bp



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved