ผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

นิละมัย แสนสุภา

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2564

ผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

นิละมัย แสนสุภา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.
เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา
Pythium aphanidermatum

นิละมัย แสนสุภา

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.ฉัตรสุดา เผือกใจแผ้ว)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.จักรพงษ์ กางโสภา)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤษดิ์นำ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

ชื่อเรื่อง ผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

ชื่อผู้เขียน นางสาวนิละมัย แสนสุภา

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น

บทคัดย่อ

การสำรวจและการเก็บตัวอย่างผักกาดขาวปลีที่เป็นโรค จากแหล่งปลูก อำเภอพบพระ จังหวัดตาก พบเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท และทำการพิสูจน์โรค พบว่าหลังการเพาะเมล็ด 4 วัน พบอาการเมล็ดเน่า (Seed rot) และเน่าคอดิน (damping - off) เมื่อต้นกล้าผักกาดขาวปลีอายุ 14 วันหลังเพาะเมล็ด จากการแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง 4 ชนิด คือ กระเจียว ขิง ข่า และดาหลา โดยได้ตรวจสอบลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของสปอร์ พบว่าสามารถแยกได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 และเมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่คัดแยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งกับเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture พบว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 และ 2 ได้สูงสุด คือ 70.99 และ 68.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลท CU-03 มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 สูงที่สุด คือ 70.60 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น จึงได้คัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 เพื่อนำมาใช้เคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีในการทดลองต่อไป

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดปลีร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 ในระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับสารเคลือบ carboxymethyl cellulose (CMC) ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยของเชื้อ *Streptomyces* sp. หลังการเคลือบเมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรค พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินสูงสุด เท่ากับ 73.51 และ 70.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งนี้ยังพบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดขาวปลี

เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีที่ผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ถูกนำมาบรรจุในซองอลูมิเนียมฟอยด์แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน เพื่อทดสอบสภาพการเก็บรักษาที่เหมาะสม ผลพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อที่มีชีวิตและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคที่สูง รวมทั้งมีผลส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่ดีด้วย

คำสำคัญ : เชื้อสเตรปโตมัยซีส, เชื้อราพิเทียม, ผักกาดขาวปลี, การเคลือบเมล็ด

Title EFFECTS OF CHINESE CABBAGE SEED COATING WITH *Streptomyces* sp. FOR CONTROLLING SEED ROT AND DAMPING-OFF CAUSED BY *Pythium aphanidermatum*

Author Miss Nilamai Sansupa

Degree Master of Science in Horticulture

Advisory Committee Chairperson Dr. Pranom Yangkhamman

ABSTRACT

Damping-off of chinese cabbage was subverted and collected from Phop Phra District, Tak province. Three isolates of *Pythium aphanidermatum* were isolated and tested their pathogenicity. All fungal isolates are able to infect and cause the disease including seed rot and damping-off after 4 and 14 days of sowing, respectively. Endophytic *Streptomyces* were isolated from 4 genera of Zingiberaceae, that is *Curcuma sessilis* Gage, *Alpinia galanga*, *Zingiber officinale* Roscoe and *Etlingera elatior*. Based on the spore formation on ISP-2 medium 12 isolates were obtained and grouped *Streptomyces* sp. After that, all of *Streptomyces* sp. isolates were determined their antifungal activity on *P. aphanidermatum* by dual culture method. The results showed that isolate CU-02 highly inhibited the fungal pathogen isolate 1 and 2 at 70.99 and 68.55 %, respectively. Whereas, pathogen isolate 3 was inhibited by *Streptomyces* sp. isolate CU-03 at 70.60 %. Therefore, the *Streptomyces* sp. isolate CU-02 and CU-03 were selected and used for the Chinese cabbage seed coating in the next experiment.

Chinese cabbage seed were coated separately with the *Streptomyces* sp. isolate CU-02 and CU-03 at 3 concentration levels; $1x10^6$, $1x10^7$, and $1x10^8$ spores ml^{-1} mixed carboxymethyl cellulose (CMC) 0.2 %. The results showed that the final concentration of spores after coating did not significant in each treatment, whereas *Streptomyces* sp. isolate CU-02 at a concentration of $1x10^6$ spores ml^{-1}

showed highly deceased seed rot and damping-off at 73.51 and 70.35 %, respectively. Moreover, this isolate was able to increase seed germination and seedling growth.

Chinese cabbage coated seeds were packed in sealed aluminum foil bags and stored at 4 and 25 ℃ for 6 months to investigate suitable seed storage condition. The results showed the highest number of active *Streptomyces* sp. was observed on coated seed which storage at 4 ℃. This treatment showed the highly inhibited fungal pathogen and it was also increase the seed germination and seedling growth in Chinese cabbage.

Keywords : Streptomyces, Pythium, Chinese cabbage, Seed coating

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น เป็นอย่างยิ่งที่ให้คำแนะนำแนวทางในการดำเนินการวิจัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ ดร.ฉัตรสุดา เผือกใจแผ้ว ที่ให้คำปรึกษาและให้ความรู้ด้านโรคพืช อีกทั้งอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ อาจารย์ ดร.จักรพงษ์ กางโสภา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรพินธุ์ สฤษดิ์นำ ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่อง ที่เป็นประโยชน์ในการเขียนวิทยานิพนธ์ และตรวจสอบความถูกต้อง จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบรูณ์ ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นักศึกษา สาขาวิชาอารักขาพืช พืชไร่ และพืชสวน ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือ ร่วมฟันฝ่าอุปสรรค และเป็นกำลังใจซึ่งกันและกันมาโดยตลอด ขอมอบคุณความดี และประโยชน์ทั้งหลายที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ แด่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อวันเพ็ญ คุณแม่บุญโชย และคุณภัสราภรณ์ แสนสุภา ที่คอยให้ความรัก ความห่วงใย และคอยช่วยเหลือ ตลอดจนเป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

นิละมัย แสนสุภา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตของการวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 3

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 3

การจำแนกกลุ่มและพันธุ์ผักกาดขาวปลี 3

การปลูกผักกาดขาวปลี 4

ลักษณะของเชื้อราพิเทียม (*Pythium* sp.) 5

การขยายพันธุ์ของเชื้อรา 6

วงจรชีวิตและการเกิดโรคของเชื้อรา 7

เชื้อสเตรปโตมัยซิส (*Streptomyces* sp.) 8

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. 10

การเก็บรักษาเชื้อ *Streptomyces* sp. 11

การเก็บรักษาเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคพืช 11

การเคลือบเมล็ด (seed coating)..... 13
พอลิเมอร์ (polymer)..... 14
การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Seed Storage)..... 16
การเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคและการเจริญของพืช..... 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน..... 18
การทดลองที่ 1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี. 18
การทดลองที่ 2 การแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง..... 19
การทดลองที่ 3 การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. 21
การทดลองที่ 4 การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี..... 24
การทดลองที่ 5 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp..... 29
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์..... 31
การทดลองที่ 1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี. 31
การทดลองที่ 2 การแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง..... 33
การทดลองที่ 3 การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. 40
การทดลองที่ 4 การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี..... 43
การทดลองที่ 5 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp..... 53
วิจารณ์ผลการทดลอง..... 63
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ..... 66
บรรณานุกรม..... 67
ภาคผนวก..... 74
ประวัติผู้วิจัย..... 77

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สัดส่วนการเคลือบเมล็ดพันธุ์ของผักกาดขาวปลีร่วมกับ Streptomyces sp. 25

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดบนอาหาร ISP-2 34

ตารางที่ 3 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากพืชวงศ์ขิง 36

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา Pythium aphanidermatum จำนวน 3 ไอโซเลท สาเหตุโรคในผักกาดขาวปลี โดยเชื้อ Streptomyces sp. จำนวน 12 โอโซเลท 41

ตารางที่ 5 ผลค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลาย CMC แขวนลอยสปอร์ และปริมาณเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-02 ที่มีชีวิตหลังเคลือบเมล็ด 44

ตารางที่ 6 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ P. aphanidermatum ไอโซเลท 1 45

ตารางที่ 7 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ P. aphanidermatum ไอโซเลท 2 46

ตารางที่ 8 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-03 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ P. aphanidermatum ไอโซเลท 3 47

ตารางที่ 9 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp.ไอโซเลท CU-02 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา P. aphanidermatum ไอโซเลท 1 49

ตารางที่ 10 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-02 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา P. aphanidermatum ไอโซเลท 2 50

ตารางที่ 11 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-03 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา P. aphanidermatum ไอโซเลท 3 50

ตารางที่ 12 ดัชนีการเกิดโรคเมล็ดเน่าในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 55

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 56

ตารางที่ 14 ดัชนีการเกิดโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 57

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 58

ตารางที่ 16 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 60

ตารางที่ 17 ความยาวต้นกล้าผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 61

ตารางที่ 18 ความยาวรากของต้นกล้าผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 62

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา Pythium sp. 6

ภาพที่ 2 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา Pythium sp. 6

ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของเชื้อรา Pythium sp. และวงจรการเกิดโรค 7

ภาพที่ 4 การเจริญของเชื้อ Streptomyces sp. 9

ภาพที่ 5 การเคลือบเมล็ดด้วยสารออกฤทธิ์ต่างๆ 13

ภาพที่ 6 โครงสร้างของพอลิเมอร์ 14

ภาพที่ 7 การขีดเชื้อ Streptomyces sp. หน้าอาหาร ISP-2 ที่วางด้วยแผ่นกรองเซลลูโลส 20

ภาพที่ 8 การวัดผลการการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี dual culture 22

ภาพที่ 9 ระดับความรุนแรงของโรคระยะก่อนเมล็ดงอก (pre-emergence damping off) ผักกาดขาวปลีอายุ 4 วัน 26

ภาพที่ 10 ระดับความรุนแรงของโรคในระยะต้นกล้า (post-emergence damping off) ใน ผักกาดขาวปลีอายุ 14 วัน 27

ภาพที่ 11 ลักษณะอาการของเกิดโรคในระยะเมล็ดและระยะต้นกล้าของผักกาดขาวปลี 31

ภาพที่ 12 ลักษณะของเชื้อรา Pythium aphanidermatum ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า 32

ภาพที่ 13 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่เจริญบนชิ้นส่วนพืช 33

ภาพที่ 14 ลักษณะรูปแบบการจัดเรียงสปอร์ของเชื้อ Streptomyces sp. 35

ภาพที่ 15 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากต้นกระเจียวแดง 37

ภาพที่ 16 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากต้นขิง 38

ภาพที่ 17 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากต้นข่า 38

ภาพที่ 18 ลักษณะของเชื้อ Streptomyces sp. ที่แยกได้จากต้นดาหลา 39

ภาพที่ 19 ลักษณะการการเจริญของเชื้อรา Pythium aphanidermatum เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อ Streptomyces sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 40

ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพของเชื้อ Streptomyces sp. จำนวน 12 โอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา Pythium aphanidermatum จำนวน 3 ไอโซเลท สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี 42

ภาพที่ 21 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา Pythium aphanidermatum ไอโซเลท 1 51

ภาพที่ 22 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา Pythium aphanidermatum ไอโซเลท 2 51

ภาพที่ 23 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา Pythium aphanidermatum ไอโซเลท 3 52

ภาพที่ 24 ปริมาณเชื้อ Streptomyces sp. โซเลท CU-02 ที่มีชีวิตหลังการนำมาเคลือบเมล็ดและเก็บรักษาในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส 53

บทที่ 1
บทนำ

ผักกาดขาวปลี (Chinese Cabbage) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis* (Lour) Olsson เป็นผักที่อยู่ในวงศ์ Brassicaceae เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น จีน และไต้หวัน มีสถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ในปี 2560 ปริมาณ 157,909 กิโลกรัม มูลค่า 8,194,557 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563) ในประเทศไทยมีพื้นที่การเพาะปลูกผักกาดขาวปลีโดยประมาณ 12,128 ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ 45,922 ตัน พื้นที่การเพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ใน จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ตาก และน่าน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561)

ผักกาดขาวปลีส่วนใหญ่มักพบปัญหาการเกิดโรคในระยะเมล็ด และระยะต้นกล้าสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมากโดยเฉพาะโรคเมล็ดเน่า (seed rot) และโรคเน่าคอดิน (damping-off) ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ วัสดุปลูก หรือมีอยู่ในแปลง (Choudhary, 2015) ลักษณะอาการที่พบ ได้แก่ เป็นแผลช้ำที่บริเวณโคนต้น เนื้อเยื่อมีแผลเน่า ใบสีเหลืองซีด บริเวณที่เป็นโรคค่อย ๆ ขยายวงกว้างออกไปอย่างรวดเร็ว ทำให้ต้นพืชตายในที่สุด เกษตรกรมีวิธีการป้องกันและควบคุมโรคโดยการใช้สารเคมี เช่น เมทาแลกซิล (metalaxyl) 35 เปอร์เซ็นต์ หรือคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) อัตรา 7 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม สำหรับคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนเพาะกล้า หรือใช้ไฮเมซาโซล (hymexazol) 36 เปอร์เซ็นต์ อัตรา 22-26 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในแปลงทั้งก่อนและหลังงอก อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องก่อให้เกิดปัญหาในเรื่องสารเคมีตกค้างในร่างกายเป็นอันตรายต่อเกษตรกร รวมไปถึงเป็นอันตรายกับแมลงและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในธรรมชาติ และส่งผลให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (สุธาสิน, 2558) ดังนั้นการจัดการควบคุมโรคโดยชีววิธีจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและนำมาใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายเพื่อลดการใช้สารเคมี ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อปฏิปักษ์และนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์กันอย่างกว้างขวาง เช่น เชื้อสเตรปโตมัยซีส (*Streptomyces* sp.) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีรายงานการผลิตเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น β-1,3-glucanase, chitinase, cellulase และ protease เป็นต้น (Araujo and Ramos 2000; Xue *et al*., 2013) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวไปมีผลในการยับยั้งหรือย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา และช่วยควบคุมโรคพืชทางดินได้ดี เช่น โรครากเน่าโคนเน่า (Al-Askar *et al*., 2015) และโรคเน่าคอดิน (EL-shaer *et al*., 2019) เป็นต้น โดยในรายงานของ Hassanisaadi *et al*. (2021) พบว่าการคลุกเมล็ดมะเขือเทศด้วย *Streptomyces* sp. ช่วยยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นในงานวิจัย

นี้จึงได้นำวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน รวมทั้งทำการศึกษาวิธีการและระยะเวลาเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์หลังเคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อให้ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. ที่ดีและสะดวกต่อการนำไปใช้สำหรับเกษตรกร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกเชื้อรา *Pythium* sp. และทดสอบการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี
2. เพื่อคัดแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ในพืชวงศ์ขิงและทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี
3. เพื่อทราบผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี
4. เพื่อทราบวิธีการและระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp.

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีแบบชีววิธี โดยเริ่มจากการคัดแยกเชื้อสาเหตุโรคในเขตอำเภอพบพระ จังหวัดตาก และการแยกเชื้อปฏิปักษ์ ได้แก่ *Streptomyces* sp. จากพืชในวงศ์ขิง เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีโดยการเคลือบไว้กับเมล็ดพันธุ์ รวมทั้งทำการศึกษาวิธีการและระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp.

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อ *Streptomyces* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน
2. ได้วิธีการเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ผักกาดขาวปลี (Chinese Cabbage) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica rapa* L. subsp. *Pekinensis* (Lour) Olsson เป็นผักพื้นเมืองในแถบเอเชียตะวันออกมีถิ่นกำเนิดทางตอนเหนือของประเทศจีน ผักกาดขาวปลีนิยมนำมารับประทานเป็นผักสด แปรรูปเป็นผักตากแห้ง และกิมจิ เนื่องจากผักกาดขาวปลีประกอบไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เช่น วิตามินเอ และวิตามินซีค่อนข้างสูง นอกจากนี้ผักกาดขาวปลียังช่วยในระบบการย่อยอาหาร และขับปัสสาวะ (ไฉน, 2542)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Dickson and Wallace, 1986)

ราก (root) เป็นระบบรากแก้ว และมีรากแขนงแตกออกด้านข้าง มีรากฝอยบริเวณปลายราก รากแขนงสามารถหยั่งลึกได้มากถึง 20 เซนติเมตร มีหน้าที่พยุงและค้ำจุนต้น

ใบ (leaves) ใบจะแตกออกด้านข้าง ลำต้น และขอบใบย่น ใบโค้งงอเข้าตรงกลาง

ดอก (flower) เป็นดอกสมบูรณ์เพศที่มีเกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน ซึ่งดอกจะทยอยบานจากด้านล่างขึ้นด้านบน

ฝัก (silique) มีลักษณะเรียวยาวปลายฝักแหลม เปลือกฝักมีร่องเป็นรอยตะเข็บสองข้าง ซึ่งจะปริแตกออกเมื่อฝักแห้ง ด้านในประกอบด้วยเมล็ดขนาดเล็กเรียงซ้อนกันเป็นแถว เมื่อฝักแก่จะแตกเป็นสองแฉกและเริ่มแตกจากข้างล่างขึ้นข้างบน

เมล็ด (seed) มีลักษณะกลม เมล็ดอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อเริ่มแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเมื่อแก่เต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงสีดำ เปลือกเมล็ดบาง ขนาดเมล็ดประมาณ 1.6 มิลลิเมตร ฝักหนึ่งจะมีเมล็ดประมาณ 10-20 เมล็ด

การจำแนกกลุ่มและพันธุ์ผักกาดขาวปลี

ผักกาดขาวปลีเมื่อแบ่งตามลักษณะรูปร่างของปลี (ศิริรัตน์, 2550) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มพันธุ์ปลียาว ลักษณะของปลีห่อยาวสูง หัวตั้งตรงเหมือนรูปไข่ เช่น พันธุ์มิชิลี หรือผักกาดหางหงส์ ผักกาดโสภณ ผักกาดขาวปลีฝรั่ง เป็นต้น

2. กลุ่มพันธุ์ปลีกลม ลักษณะของปลีห่อรวมกันเป็นแบบทรงสั้น มีความอ้วนกลม เช่น พันธุ์ซาลาเดียไฮบริด และพันธุ์ทรอปิคคอล ไพรด์ ไฮบริด เป็นต้น

3. กลุ่มพันธุ์ปลีหลวมหรือไม่ห่อปลี ส่วนมากเป็นผักพื้นเมืองของเอเชีย ผักกาดขาวพวกนี้มักไม่ห่อเป็นปลี สามารถปลูกได้แม้อากาศไม่หนาว เช่น พันธุ์ผักกาดขาวใหญ่

การปลูกผักกาดขาวปลี

ผักกาดขาวปลีเป็นพืชที่มีอายุปีเดียว (annual) ในประเทศไทยสามารถปลูกได้ตลอดปี แต่ปลูกได้ผลผลิตดีที่สุด ในช่วงเดือน ตุลาคม–กุมภาพันธ์ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาวปลี คือ ดินควรมีความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 6–6.5 ชอบดินร่วนที่มีความอุดมสมบูรณ์สูงและมีการระบายน้ำได้ดี ต้องการน้ำอย่างสม่ำเสมอและเพียงพอตลอดการเจริญเติบโต ต้องการแสงแดดตลอดทั้งวัน นอกจากนี้ผักกาดขาวปลียังต้องการสภาพอากาศที่หนาวเย็น โดยจะให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15–20 องศาเซลเซียส วิธีการปลูกผักกาดขาวปลีสามารถแบ่งได้ 3 วิธี คือ

1. แบบหว่านเมล็ดโดยตรง เป็นการหว่านเมล็ดพันธุ์ให้กระจายทั่วทั้งแปลง ซึ่งการปลูกวิธีนี้เหมาะสำหรับกรณีที่เมล็ดพันธุ์มีราคาไม่แพง การหว่านเมล็ดควรให้เมล็ดกระจายกันอย่างสม่ำเสมอ หรือใช้ในอัตรา 200–300 กรัมต่อไร่ และถอนแยกเมื่อต้นกล้ามีใบจริงประมาณ 1–2 ใบ หรืออายุ 7 วันหลังจากเพาะ โดยเลือกถอนแยกต้นที่ไม่สมบูรณ์และบริเวณที่มีต้นกล้าหนาแน่นออก ควรถอนย้ายเมื่อต้นกล้าอายุ 20–25 วัน โดยจัดระยะปลูกระหว่างต้นและระหว่างแถวประมาณ 50 x 50 เซนติเมตร หลังจากนั้นใช้ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักเพื่อเร่งการเจริญเติบโต

2. แบบปลูกเป็นแถวหรือหยอดเป็นหลุม การหยอดเมล็ดเป็นวิธีที่ประหยัดกว่าการปลูกแบบหว่าน โดยหยอดเมล็ดลงประมาณ 3–5 เมล็ดต่อหลุม ที่ลึกประมาณ 1–2 เซนติเมตร หลังจากนั้นใช้ฟางคลุมบาง ๆ เพื่อช่วยรักษาความชื้นในดิน เมื่อต้นกล้างอกใบจริงประมาณ 1–2 ใบ หรืออายุ 7 วัน ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น โดยให้ได้ระยะปลูกระหว่างต้นและแถวประมาณ 50 x 50 เซนติเมตร

3. การปลูกแบบเพาะลงถาดหลุม เป็นวิธีที่ประหยัดเมล็ดพันธุ์มากที่สุด โดยเตรียมผสมวัสดุเพาะที่มีส่วนผสมของดิน 1 ส่วน แกลบดำ 1 ส่วน ขุยมะพร้าว 1 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุดินใส่ถาดเพาะเมล็ด หลุมละ 1–2 เมล็ด และใช้ดินกลบบาง ๆ หลังจากนั้นรดน้ำให้ชุ่ม และวางไว้ที่อากาศถ่ายเทสะดวก ควรย้ายปลูกลงแปลงเมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 20–25 วัน โดยเลือกต้นกล้าที่สมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีโรค และไม่มีแมลงเข้าทำลาย (กรมส่งเสริมการเกษตร, ม.ป.ป.)

ลักษณะของเชื้อราพิเทียม (*Pythium* sp.)

การจัดระเบียบอนุกรมวิธานของเชื้อ *Pythium* sp. ตามเอกสารของ Uzuhashi *et al.,* (2010) มีดังนี้

Kingdom: Chromista

Phylum: Oomycota

Class: Oomycetes

Order : Pythiales

Family: Pythiaceae

Genus: Pythium

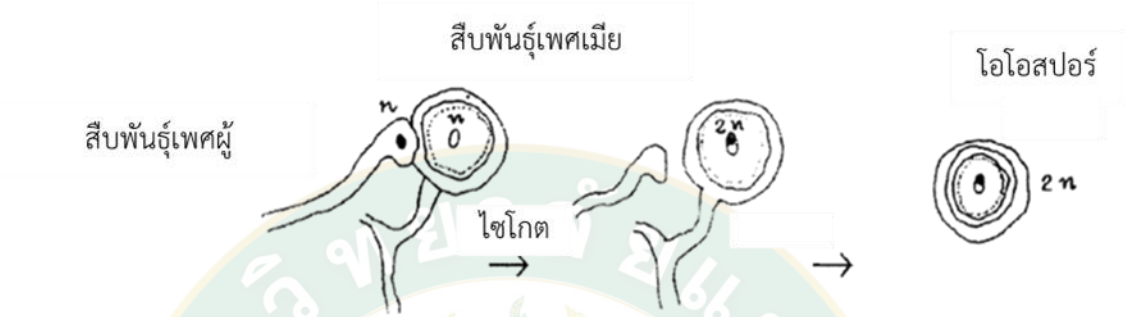
เชื้อรา *Pythium* sp. จัดว่าเป็นราชั้นต่ำ มีการดำรงชีวิตแบบปรสิต (parasite) กับพืช ลักษณะเส้นใย(mycelium) ใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น (non-septate hyphae) การแบ่ง species ของเชื้อรา *Pythium* sp. แบ่งตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะรูปร่างและขนาดของโอโอสปอร์ (oospore) ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (antheridium) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (oogonium) หรือแบ่งตามสภาพอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ (Schroeder *et al.,* 2013) เชื้อรา *Pythium* sp. เข้าทำลายพืชได้ 2 ระยะ Wei *et al.,* (2010) ดังนี้

1. ระยะก่อนเมล็ดงอก (Pre–emergence seed rot) เชื้อเข้าทำลายเมล็ด ในระยะก่อนงอก โดยเมล็ดที่เชื้อเข้าทำลายมีลักษณะเมล็ดนิ่ม เหี่ยวย่น และเน่าตายในที่สุด ในระยะเมล็ดงอกต้นอ่อนจะมีการพัฒนาและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทำให้ผนังเซลล์ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อเชื้อราเข้าทำลายในส่วนของใบเลี้ยง และรากแล้วพบลักษณะแผลช้ำน้ำสีค่อนข้างดำและขยายใหญ่ขึ้น จนกระทั่งทำให้ต้นอ่อนเน่าตายก่อนการงอกพ้นดิน ลักษณะที่พบ คือหลังจากที่หว่านเมล็ดไปแล้วต้นกล้าจะงอกไม่สม่ำเสมอ และงอกเป็นหย่อมๆ

2. ระยะต้นกล้า (Post–emergence damping–off) เชื้อจะเข้าทำลายหลังจากที่ต้นกล้างอกโผล่พ้นดินขึ้นมาแล้ว ในระยะแรกจะเกิดเป็นแผลจุดช้ำน้ำขนาดเล็กและจะเห็นรอยช้ำที่บริเวณโคนของต้นกล้าแล้วแผ่ขยายออกรอบโคนต้นจนเห็นเป็นสีน้ำตาล ทำให้ต้นกล้าหักพับ ในขณะที่ใบยังเขียวอยู่ ต่อมายอดเฉาและเน่าตายในที่สุด สภาพแวดล้อมที่ทำให้เชื้อราระบาดได้ง่าย ได้แก่ อากาศร้อน มีความชื้นสูง ดินหรือวัสดุเพาะระบายน้ำไม่ดี หรือเพาะกล้าแน่นเกินไป

การขยายพันธุ์ของเชื้อรา *Pythium* sp. มี 2 ลักษณะคือ

1. การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) โดยมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (antheridium) และเพศเมีย (oogonium) เมื่อมีการปฏิสนธิกันแล้วเกิดเป็นไซโกต (zygote) มีโครโมโซมเป็น 2n เรียกว่า diploid zygote และพัฒนาเป็นโอโอสปอร์ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Pythium* sp.
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Agrios (2005)

2. การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) มีอับสปอร์ (sporangium) อยู่ภายในเวสิเคิล (vesicle) และพัฒนาเป็นซูโอสปอร์ (zoospore) เมื่อ vesicle แตก zoospore ถูกปล่อยออกมา (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 2 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา *Pythium* sp.
ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Agrios (2005)

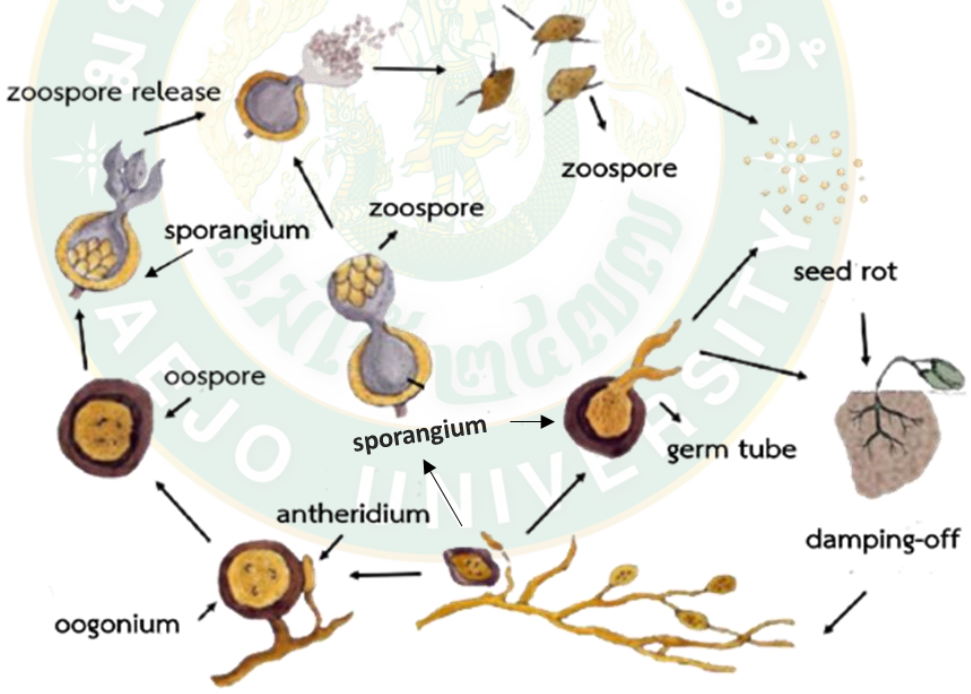
วงจรชีวิตและการเกิดโรคของเชื้อรา *Pythium* sp.

เชื้อรามีการดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมที่จำกัด เช่น ความชื้นในดิน ระดับออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ การเข้าทำลายพืชของเชื้อรามักไม่มีความเจาะจงกับพืชอาศัย วงจรชีวิตของการเกิดโรคของเชื้อรา *Pythium* sp. Green and Jensen (2000) ดังนี้

1. overseasoning infection เชื้อสามารถเจริญอยู่ข้ามฤดูโดยอาศัยอยู่ในดินหรือในเนื้อเยื่อพืชชั้นพาเรงคิมา (parenchyma) ในรูปของ oospore

2. primary infection เมื่อมีความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะสม oospore งอก sporangium และปล่อย zoospores เข้าทำลายพืชในชั้นผนังเซลล์ (cell wall) และเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) จึงทำให้เมล็ดเน่าและไม่งอก

3. secondary infection ส่วน sporangium งอก germ tube แทงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชโดยผ่านเนื้อเยื่อพืชชั้น epidermis และเนื้อเยื่อชั้นส่วน cortex (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Pythium* sp. และวงจรการเกิดโรค

ที่มา : Australian Centre for International Agricultural (2010)

เชื้อสเตรปโตมัยซิส (*Streptomyces* sp.)

การจัดระเบียบอนุกรมวิธานของเชื้อ *Streptomyces* sp. ตามเอกสารของ Anderson and Wellington (2001) มีดังนี้

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteria

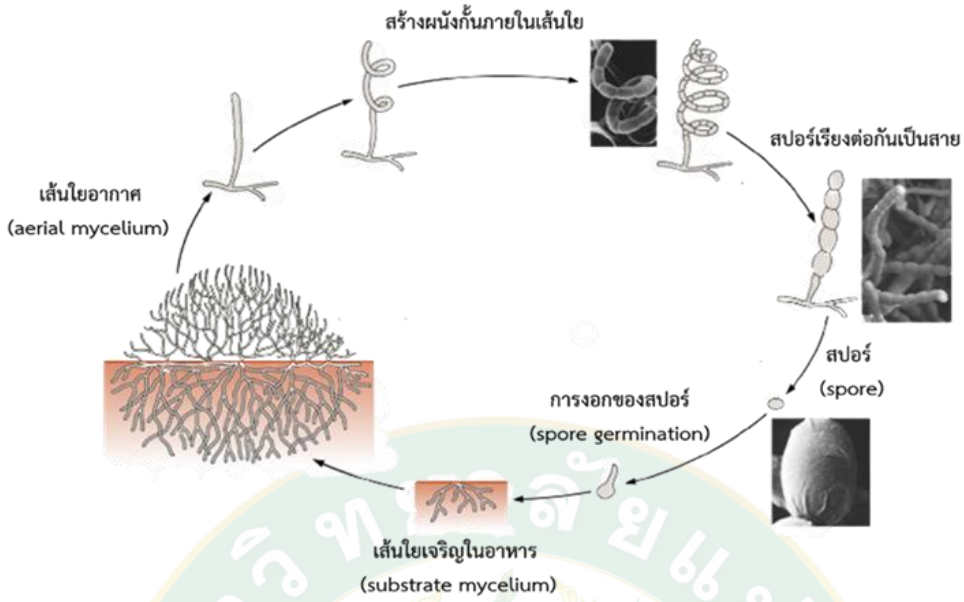
Class : Actinobacteria

Order : Actinomycetales

Family : Streptomycetaceae

Genus : Streptomyces

Streptomyces sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะคล้ายเชื้อรา มีเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) เจริญอยู่เหนือผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีเส้นใยเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) มีผนังเซลล์ที่หนา และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มีสร้างผนังกั้นภายในเส้นใย และเมื่อ aerial mycelium เจริญเต็มที่จะสร้างสปอร์เรียงต่อกันเป็นสาย (ภาพที่ 4) โดยลักษณะผิวของสปอร์มี 5 แบบ คือ ผิวเป็นหนาม (spiny) ผิวเป็นขน (hairy) ผิวเป็นปุ่มปม (warty) ผิวเรียบ (smooth) และผิวย่น (rugose) เส้นผ่าศูนย์กลางของสปอร์มีขนาด 0.5-2.0 ไมครอน ผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ (velvet) หรือคล้ายผงแป้ง (powdery) และมีการสร้างรงควัตถุ เช่น สีขาว สีดำ สีเหลือง สีเทา และสีชมพู เมื่อมีอายุมากขึ้นสีอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื่องจากมีการสร้างรงควัตถุเมลานิน (Melanin) เช่น *S. scabrisporus* (Liu *et al*., 2018) นอกจากนี้เชื้อ *Streptomyces* sp ยังมีการผลิตและหลั่งสารจีโอสมิน (geosmin) ออกมาปะปนกับเนื้อดิน ซึ่งเมื่อมีฝนตกลงมากระทบกับผิวดินสปอร์จะหลุดลอยขึ้นชั้นบรรยากาศพร้อมสารจีโอสมิน (Geosmin) ทำให้มีกลิ่นดินออกมาทุกครั้งหลังมีฝนตก และสปอร์ที่อยู่ในดินจะยังคงสามารถดำรงชีวิตอยู่ในดินที่สภาวะแห้งหรือขาดน้ำได้ (Becher *et al.,* 2020) สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25–30 องศาเซลเซียส ระดับค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6.5–8.0 และใช้คาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานในการดำรงชีวิต



ภาพที่ 4 การเจริญของเชื้อ *Streptomyces* sp.
ที่มา : ดัดแปลงมากจาก Barka *et al.* (2016)

สเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟต์ (endophytic streptomyces) เป็นจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ ที่พบในเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ทั้งพืชบกและพืชน้ำ เป็นสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ภายในช่องว่างระหว่างเซลล์ของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ เช่น ราก ลำต้น ดอก และใบของพืชที่มีความสมบูรณ์ โดยไม่ก่อให้เกิดโรคพืช หรือมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติแก่พืชชนิดนั้นๆ ซึ่งเป็นการอยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualistic symbiosis) โดยจุลินทรีย์เอนโดไฟต์สามารถสร้างสารในกระบวนเมทาโบไลต์ (metabolite) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือผลิตฮอร์โมนที่เป็นประโยชน์ต่อพืช(Bacon and White, 2000) สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ และยังช่วยสร้างความต้านทาน หรือป้องกันการเกิดโรคพืชบางชนิดให้กับพืชอาศัย มีหลายงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาในด้านการคัดแยกจุลินทรีย์เอนโดไฟต์กันอย่างแพร่หลายจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ เช่น งานวิจัยของศิริมาศและเกวลิน (2557) ได้แยกเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบโดยการเลี้ยงบนอาหาร IMA-2 พบว่าสามารถได้จำนวน 102 ไอโซเลต และ ชัยพร และเกวลิน (2556) แยกเชื้อแอกติโนมัยซีสต์เอนโดไฟต์จากพืชวงศ์ลำไยบนอาหาร IMA-2 สามารถแยกได้ทั้งหมด 45 ไอโซเลท

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อ *Streptomyces* sp.

ฉัตรสุดา (2551) สามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชสมุนไพร 8 ชนิด ได้จำนวน 54 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อ *Streptomyces* sp. มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกลุ่มผักกาดที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธีการคลุกเมล็ด การพ่นสปอร์แขวนลอย และการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดิน พบว่าวิธีการคลุกเมล็ดผักกาดขาวปลีร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท SC14 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีกรรมวิธีอื่น ๆ โดยมีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินได้ถึง 83.34 เปอร์เซ็นต์

ปราณี และ ชนิดาภา (2555) ศึกษาและคัดแยก *Streptomyces* sp. ได้จำนวน 283 ไอโซเลท และนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ chitinase ได้จำนวน 68 ไอโซเลท จากนั้นนำมาควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในต้นกล้าพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. PACCH24 สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเอนไซม์ chitinase ยับยั้งการเจริญและย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค

Chen *et al*. (2016) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *S. plicatus* B4-7 ที่แยกได้จากสวนส้ม พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora capsici* ได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี dual culture และเมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของ zoospore ได้ผลดีโดยเห็นความผิดปกติของ zoospore เมื่อส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ และเมื่อปลูกเชื้อพร้อมกันบนใบพริก พบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

Tamreihaoa *et al*. (2016) ศึกษาการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากต้นข้าว พบว่าเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ถึง 98.5 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี dual culture และเมื่อตรวจสอบการผลิตสารสำคัญ พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ได้ 5 ชนิด ได้แก่ chitinase, β-1,3-glucanase, β-1,4-glucanase และ proteaseนอกจากนี้ยังสามารถผลิต IAA ได้มากถึง 30.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นข้าว โดยมีความสูงต้น น้ำหนักต้น น้ำหนักราก ผลผลิตรวม และน้ำหนักของเมล็ดข้าวเพิ่มสูงขึ้น

Toumatia *et al*. (2016) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *S. mutabilis* ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium culmorum* ในต้นกล้าข้าวสาลี ในสภาพโรงเรือน สามารถลดการเกิดโรคสาเหตุของโรคใบไหม้ได้ถึง 79.60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเมล็ดมาเคลือบด้วยเชื้อ *S. mutabilis*

การเก็บรักษาเชื้อ *Streptomyces* sp.

วิธีการเก็บรักษาเชื้อเป็นสิ่งที่สำคัญเนื่องจากมีผลต่อประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์และสามารถเก็บสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติที่ดีไว้ได้สำหรับนำมาใช้ทดสอบในงานวิจัยที่ต้องใช้ระยะเวลานาน บางครั้งอาจต้องการเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณ ดังนั้นอาหารที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อควรเป็นอาหารที่ช่วยให้เกิดการสร้างสปอร์ อาหารที่นิยมใช้ได้แก่ Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) International Streptomyces Project (ISP) ซึ่งการเลือกใช้วิธีเก็บรักษาเชื้อขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของนักวิจัยและคุณสมบัติของเชื้อ เช่น การเก็บรักษาเชื้อในระยะเวลาสั้นสามารถเก็บไว้ในอาหารวุ้นเอียง แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 เดือน แต่ถ้าหากมีการถ่ายเชื้อบ่อย ๆ สามารถส่งผลเสียทำให้บางสายพันธุ์สูญเสียคุณสมบัติที่ดีทางพันธุกรรมบางอย่างไป หรืออาจเกิดการปนเปื้อนเชื้ออื่น (contamination) ได้ง่าย ดังนั้นสามารถแก้ไขได้โดยเก็บเชื้อไว้ในกลีเซอรอล (glycerol) 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เนื่องจากกลีเซอรอลสามารถซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของเชื้อ ทำให้จุดเยือกแข็งของเหลวภายในเซลล์ลดลง ช่วยไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม ซึ่งการเก็บด้วยวิธีนี้สามารถเก็บไว้ได้อย่างน้อย 5 ปี (สุจรรยา, 2556)

การเก็บรักษาเชื้อเป็นระยะเวลานานสำหรับ *Streptomyces* sp. บางชนิดสามารถเก็บรักษาไว้ในดินที่ปราศจากเชื้อ หรือการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่แข็ง (freeze dehydration) ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส แต่การเก็บโดยวิธีดังกล่าวมีข้อเสียต่อปริมาณความมีชีวิตของเชื้อ คืออัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการเก็บรักษา ดังนั้นวิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป คือการเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) โดยปิดผนึกผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อให้เรียบร้อยแล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวที่ -196 องศาเซลเซียส ถึง -120 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการที่ง่ายและสะดวก แต่อย่างไรก็ตาม การจะเลือกใช้วิธีใดขึ้นกับจุดประสงค์ของนักวิจัยและคุณสมบัติของเชื้อ (ศรีสกุล, 2553)

การเก็บรักษาเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคพืช

ปวีณา (2555) ศึกษาประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ *Streptomyces formicae* แบบผงสำหรับใช้ควบคุมโรครากขาวในยางพารา โดยทำการเก็บรักษาสูตรสำเร็จแบบผงที่อุณหภูมิ 4, 28 และ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 เดือน จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อที่ถูกเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* ดีที่สุด และพบว่ามีจำนวนประชากรของเชื้อที่มีชีวิตรอดสูงสุด และค่อนข้างคงที่ในช่วง 1-3 เดือน แต่สำหรับการเก็บรักษาเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 28 และ 32 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวน

ประชากรของเชื้อเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนแรกในการเก็บรักษา และไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค

ปรารถนา (2557) ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จเชื้อ *S. philanthi* หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* สาเหตุโรคราสนิมในถั่วฝักยาว ซึ่งทำการทดสอบโดยเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีจำนวนประชากรของเชื้อที่มีชีวิตรอดสูงสุดและค่อนข้างคงที่ในช่วง 1-2 เดือน ในขณะที่การเก็บไว้ในอุณหภูมิ 28 และ 40 องศาเซลเซียส มีจำนวนประชากรของเชื้อที่มีชีวิตรอดลดลงตั้งแต่เดือนแรกในการเก็บรักษา และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อที่เก็บไว้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคได้ 87.00, 62.85 และ 55.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

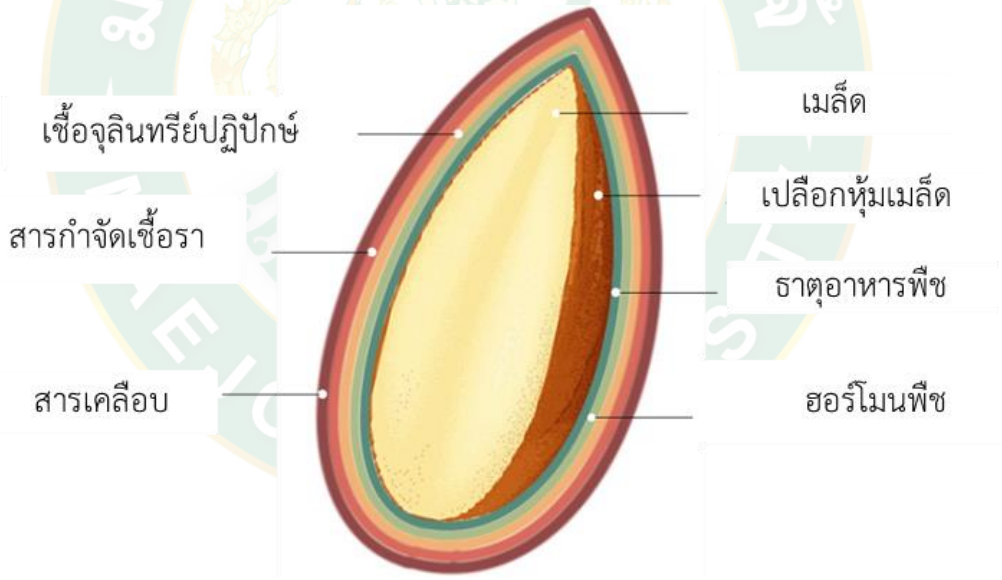
Ponsuriya and Sunpapao (2014) ศึกษาผลสูตรสำเร็จของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งหลังจากเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลต่อจำนวนประชากรการรอดชีวิตของเชื้อสูงสุด และเมื่อนำมาทดสอบในสภาพโรงเรือน สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ถึง 91 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Tamreihaoa *et al*. (2016) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากต้นข้าวเพื่อควบคุมโรคกาบใบแห้ง ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *R. solani* โดยได้ผลิตสูตรสำเร็จ เชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 แบบผงที่ใช้ทัลคัม (talcum) และแป้งข้าวโพด (corn starch) แล้วเก็บรักษาและนับปริมาณเชื้อ พบว่าสูตรสำเร็จแบบผงที่ใช้ talcum มีปริมาณเชื้อสูงกว่าสูตรสำเร็จแบบผงที่ใช้แป้งข้าวโพด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน และ สูตรสำเร็จแบบผงที่ใช้ทัลคัม ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของข้าวและยังสามารถช่วยลดการเกิดโรคกาบใบแห้งได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน

การเคลือบเมล็ด (seed coating)

การเคลือบเมล็ดพันธุ์เป็นการนำพอลิเมอร์มาห่อหุ้มรอบๆ ผิวของเมล็ดพันธุ์อย่างบางเบา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยสารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่นำมาใช้ เช่น สารป้องกันแมลง สารป้องกันเชื้อรา ธาตุอาหาร และเชื้อปฏิปักษ์ เป็นต้น (ภาพที่ 5) เพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้ได้ต้นกล้าที่งอกดีมีความแข็งแรง ไม่มีการเข้าทำลายของโรค และแมลง นอกจากนี้เมื่อนำมาเก็บรักษาแล้วเมล็ดยังคงรักษาคุณภาพการงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไว้ในระยะยาว และมีประสิทธิภาพดีที่สุดสำหรับการเพาะปลูกต่อไป ดั้งนั้นการเคลือบเมล็ดพันธุ์จึงได้รับความนิยมและความสนใจทั้งบริษัทผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์และเกษตรกร (จักรพงษ์, 2562)

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ต้องอาศัยสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางเพื่อใช้เป็นสารยึดเกาะ (binder) ทำหน้าที่เป็นตัวประสานให้สารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ ถูกเคลือบติดกับผิวของเมล็ดพันธุ์ โดยคุณสมบัติของสารเคลือบที่นำมาใช้ต้องไม่ขัดขวางการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (พจนา, 2559)



ภาพที่ 5 การเคลือบเมล็ดด้วยสารออกฤทธิ์ต่างๆ
ที่มา : ดัดแปลงมาจาก จักรพงษ์ (2563)

พอลิเมอร์ (polymer)

พอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อให้สารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้เป็นอย่างดี โดยสารนั้นไม่หลุดร่วงไป พอลิเมอร์มีส่วนประกอบเป็นมอนอเมอร์(monomer) ที่ประกอบด้วยทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) การนำพอลิเมอร์มาละลายเพื่อใช้สำหรับเคลือบเมล็ดต้องคำนึงความสามารถในการละลายหรือความหนืดของพอลิเมอร์ซึ่งขึ้นอยู่กับค่ากรด-ด่าง (pH-dependent binder) และหรือในพอลิเมอร์ที่มีสายคาร์บอนพื้นฐาน C_{12} ถึง C_{15} ซึ่งความยาวของมอนอเมอร์ต่างกันมีผลทำให้พอลิเมอร์มีอุณหภูมิที่จุดหลอมเหลวที่แตกต่างกัน และยังมีผลต่อควบคุมการผ่านเข้าออกของน้ำเข้าสู่เมล็ด จนนำไปสู่กระบวนการงอกของเมล็ด (Pamuk, 2004)

ลักษณะโครงสร้างของสายพอลิเมอร์มีลักษณะหลายแบบ (ภาพที่ 6) ได้แก่ แบบเส้นตรง (linear polymer) เป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะสายโซ่ยาว แบบกิ่ง (branch polymer) เป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างที่ยื่นออกมาจากสายโซ่หลัก และแบบร่างแห (crosslinked polymer) เป็นพอลิเมอร์ที่เกิดจากการเชื่อมโยงระหว่างโซ่พอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างต่อเนื่องกันเป็นร่างแห หรือเนื่องจากโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่อยู่ภายในเชื่อมต่อกันไม่สามารถแยกออกจากกันเป็นโมเลกุลเดี่ยว ๆ ได้

ภาพที่ 6 โครงสร้างของพอลิเมอร์

ที่มา : Brandrup (2010)

สารเคลือบ

1. Polyvinylpyrrolidone (PVP) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ เมื่อแห้งจะใส เงา มันวาว และแข็ง แต่ระหว่างการทำให้แห้งจะเหนียวมากต้องใช้ทัลคัม (Talcum) หรือใช้พวกพลาสติไซเซอร์ (plasticizers) ช่วยลดความเหนียวโดยทั่วไป PVP มักถูกใช้ร่วมกับสารตัวอื่นๆ เพื่อช่วยให้มีการยึดเกาะได้ดี ไม่กะเทาะหลุดลอก และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีสารเคลือบ PVP มีหลายชนิด และเมื่อนำมาใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์จะให้ผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในด้านความงอกที่แตกต่างกันดังานวิจัยของ กิตติวรรณ และ บุญมี (2557) ศึกษาการใช้พอลิเมอร์ 3 ชนิด คือ Polyvinylpyrrolidone (PVP-K30) Polyvinylpyrrolidone (PVP-K90) และ Polyvinyl alcohol (PVA) ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์หลังจากนั้นตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ พบว่าการใช้ PVP-K90 เป็นสารเคลือบทำให้เมล็ดมะเขือเทศมีความงอกและความเร็วในการงอกสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เคลือบทั้งในห้องปฏิบัติการและโรงเรือน

2. Polyethylene glycols (PEG) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถในตัวทำละลายอินทรีย์ และจะเป็นของแข็งสีขาวที่อุณหภูมิห้องมีลักษณะเป็นเงา และสามารถเกิดเป็นฟิล์มได้ มีความอ่อนนุ่มยืดหยุ่นได้ดี นอกจากนี้ PEG ยังสามารถแลกเปลี่ยนความชื้นกับสภาพแวดล้อม (hygroscopic) ได้ รายงานวิจัยการนำสาร PEG มาใช้ในการเคลือบเมล็ดร่วมกับสารออกฤทธิ์และได้ผลต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ดี ดังเช่น อรพันธ์ (2554) ได้ศึกษาการเคลือบเมล็ดข้าวโพดหวานโดยผสมสารระหว่างยูเรีย ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 กรัม ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ต่อเมล็ดพันธุ์ 1,000 กรัม พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยยูเรีย 0.3 กรัม ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอก ดัชนีการงอก และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดหวานที่ดีสุด

3. Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายได้ดีในน้ำเย็นแต่ไม่ละลายในน้ำร้อน มีลักษณะเป็นผงสีขาว นิยมใช้ในการเคลือบเมล็ดมากที่สุด เนื่องจากมีความแข็งแรง คงทนต่อความร้อน แสง อากาศ ความชื้น และมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ methylcellulose แต่มีหมู่ hydroxypropyl เพิ่มขึ้นทำให้พอลิเมอร์มีความเข้ากันได้ดีกับสารอินทรีย์เกือบทั้งหมด และสามารถใช้ร่วมกับสารเคลือบชนิดอื่นๆ ได้ (ณรงค์, 2534) ดังงานวิจัยของ บุญมี และคณะ (2553) ได้ศึกษาความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานหลังการเคลือบด้วยสารพอลิเมอร์ ชนิดต่างๆ ผลการวิจัยพบว่าการใช้ HPMC, HPMC ผสมกับ Polyacrylate และ HPMC ผสมกับ Vinyl acetate ทำให้ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ดีมากกว่าเมล็ดไม่เคลือบโดยเฉพาะเมื่อเพาะความงอกในสภาพแปลงปลูก

4. Carboxymethyl cellulose (CMC) เป็นผงสีขาวไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นอันตราย ไม่มีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม จัดเป็นพอลิเมอร์อนุพันธ์ของกลุ่มเซลลูโลสที่มีหมู่ Carboxymethyl (-CH2-COOH) ติดกับหมู่ hydroxyl (-OH) ของ glucopyranose monomers เป็นไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) คือ พอลิเมอร์ชนิดชอบน้ำ (hydrophilic) สามารถละลายได้ทั้งน้ำเย็นและน้ำอุณหภูมิห้อง แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงได้ดี แต่ค่าความหนืดหลังการละลายสารจะขึ้นกับค่ากรด-ด่าง (pH) ซึ่งความหนืดจะมีผลช่วยในการยึดเกาะติดกับเมล็ด (รสพร, 2558) ดังนี้

pH >10 ความหนืดของสารละลายลดลง
pH 5-9 มีผลน้อยต่อความหนืดของสารละลาย
pH < 4 ความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Seed Storage)

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์มีจุดประสงค์การทำที่หลากหลาย เช่น เพื่อใช้ปลูกในฤดูถัดไป เพื่อสำรองไว้ใช้ในยามมีภัยธรรมชาติซึ่งเป็นการเก็บรักษาที่นานออกไป 2-3 ปี หรือเก็บไว้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งจะเก็บไว้ให้ได้นาน ๆ เพื่อเก็บไว้เป็นเชื้อพันธุ์กรรมสำหรับนำมาใช้ในช่วงเวลาที่ต้องการ แต่จะด้วยวัตถุประสงค์ใดก็ตามสิ่งสำคัญในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นั้น เมล็ดที่ถูกเก็บรักษาต้องยังคงมีความงอกและความแข็งแรงที่สูง ซึ่งโดยหลักการแล้วการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ประเภทเมล็ดแห้ง (orthodox seed) จะเก็บไว้ที่สภาพห้องที่มีความชื้นอากาศและอุณหภูมิที่ต่ำจึงจะคงรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ดีและเก็บได้นาน (วันชัย, 2542: ชลลดา และคณะ 2559) ในกรณีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับเชื้อก็มีหลักการเช่นกันแต่ความยากจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากจะต้องคงไว้ซึ่งความมีชีวิตของเชื้อที่สูงด้วย งานวิจัยในด้านการเก็บรักษาเมล็ดเคลือบร่วมกับเชื้อยังมีการศึกษาที่น้อยมากและยังไม่สามารถเก็บได้นานเนื่องจากด้วยข้อจำกัดของความมีชีวิตของเชื้อ ดังเช่นงานวิจัยของ Callaghan *et al*., (2006) ได้ทำการเคลือบเมล็ดพันธุ์หัวหอม ร่วมกับเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* F113 โดยใช้สารเคลือบ CMC อัตรา 0.2 กรัม เพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์หัวหอมและเมื่อนำเมล็ดที่เคลือบร่วมกับเชื้อไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์หัวหอมยังคงมีความงอกและความแข็งแรงดี และเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* F113 ยังคงมีศักยภาพที่ดีในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้

การเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคและการเจริญของพืช

การเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์ มีจุดประสงค์เพื่อการให้เชื้อที่เคลือบกับเมล็ดช่วยป้องกันเชื้อสาเหตุโรคไม่ให้เข้าทำลายต้นกล้าระหว่างการงอกทำให้เมล็ดงอกดี รวมทั้งเชื้อบางชนิดยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ด้วย ดังนั้นการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์จึงเหมาะสำหรับการนำมาใช้เพื่อช่วยยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำไปปลูกแล้วได้ต้นการที่งอกดีและแข็งแรง ที่ผ่านมายังมีการศึกษาวิจัยที่น้อย แต่ในปัจจุบันถือว่าเป็นวิธีการที่น่าสนใจเนื่องจากกระแสของการทำเกษตรแบบปลอดภัยและแบบอินทรีย์เป็นที่นิยมสูงขึ้น ตัวอย่างงานวิจัยต่างๆ ที่มีการทำผ่านมา เช่น จักรพงษ์ และบุญมี (2561) ศึกษาการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดิน และติดตามดูการเจริญเติบโตของต้นกล้าในเรือนทดลอง ในการศึกษาใช้จุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Pseudomonas fluoresces* 31-12 และ *Bacillus subtilis* โดยใช้ CMC อัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารเคลือบ จากผลการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *P. fluorescens* 31-12 มีผลต่อความยาวต้นดีที่สุดคือ 41.23 มิลลิเมตร ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 มีผลต่อน้ำหนักสดต้นกล้าดีที่สุด คือ 743.06 มิลลิกรัม การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 ในระบบปลูกไร้ดิน ต้นกล้าผักกาดหอมมีน้ำหนักสดใบ น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งใบ และน้ำหนักแห้งรากดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น

จักรพงษ์ และคณะ (2564) ศึกษาผลของการเคลือบเมล็ดด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพ *Bacillus thuringiensis* สูตร 4 (MMO4) และหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพ *Beauveria bassiana* สูตร 5 (MMO5) ในอัตราที่แตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 โดยแบ่งกรรมวิธีทดลอง คือ เมล็ดไม่เคลือบ การเคลือบเมล็ดด้วยสาร CMC อัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดด้วย CMC ร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ MMO4 และ MMO5 ที่อัตรา 3 ระดับ คือ 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำมาตรวจสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพเรือนทดลอง ผลพบว่าการเคลือบเมล็ดทุกวิธีการมีความงอกดีมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ ส่วนการเคลือบเมล็ดด้วย CMC ร่วมกับ MMO5 ทุกอัตรามีความยาวของต้นกล้าดีมากกว่าเมล็ดเคลือบ MMO4 และเมล็ดที่ไม่ได้เคลือบ

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

สถานที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองด้านโรคพืชและทดสอบเชื้อปฏิปักษ์ ณ ห้องปฏิบัติการด้านโรคพืชและการใช้ประโยชน์ด้านจุลินทรีย์ สาขาวิชาอารักขาพืช และการทดลองด้านเมล็ดพันธุ์ ณ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือน สาขาวิชาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2562 ถึง เดือนพฤษภาคม 2564

การทดลองที่ 1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

สำรวจและเก็บตัวอย่างผักกาดขาวปลีที่เป็นโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินจากแหล่งปลูกอำเภอพบพระ จังหวัดตาก โดยทำการแยกเชื้อจากชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการของโรค และแยกจากดินบริเวณต้นที่เป็นโรค ดังนี้

1. นำต้นกล้าที่แสดงอาการโรคเน่าคอดินล้างด้วยน้ำไหล เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกและเศษดินที่ติดอยู่ภายนอกออกให้หมด จากนั้นแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และแช่ใน ethanol ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำต้นกล้าใส่กล่องความชื้น (moist chamber) เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญออกมาบนชิ้นส่วนพืช

2. เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบต้นกล้าที่แสดงอาการโรคเน่าคอดินใส่กล่องความชื้น จากนั้นนำแตงกวา หันเป็นแว่นและฆ่าเชื้อด้วย ethanol ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นำมาวางบนผิวหน้าดินเป็นเวลา 2 วัน เพื่อล่อให้เชื้อราสาเหตุโรคเจริญบนชิ้นส่วนพืช

3. ใช้เข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เขี่ยเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคที่เจริญบนชิ้นส่วนพืชออกมาวางบนอาหารวุ้นสูตร potato dextrose agar (PDA) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

การพิสูจน์โรคตามหลักเกณฑ์ของ Koch (Koch's postulation)

1. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อรามีอายุ 2 วัน ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย (hyphal tip) จำนวน 2 ชิ้น ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคลงในพีทมอส (peat moss) 150 กรัม ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังปลูกเชื้อลงพีทมอสแล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

2. นำเมล็ดผักกาดขาวปลีฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปหยอดในกระถางเพาะขนาด 2 นิ้ว

3. การบันทึกผลโดยทำการตรวจการเข้าทำลายในระยะก่อนเมล็ดงอกพ้นดิน (Pre-emergence damping-off) และระยะต้นกล้า (Post-emergence damping-off) เมื่อต้นกล้าอายุครบครบ 4 วัน (First count) และ 14 วันหลังเพาะ (Final count) ดูลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

การทดลองที่ 2 การแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง

เก็บตัวอย่างพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) จาก อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเลือกเก็บเฉพาะส่วนที่สมบูรณ์ ไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อโรค แมลงศัตรูพืช หรือแสดงอาการขาดธาตุอาหาร ตัวอย่างพืชที่นำมาทำการแยกเชื้อมีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่

1. กระเจียวแดง (Curcuma*; Curcuma sessilis* Gage*)* ส่วนราก ใบ และดอก
2. ข่า (Galangal; *Alpinia galanga*) ส่วนราก เหง้า ลำต้นเหนือดิน และใบ
3. ขิง (Ginger; *Zingiber officinale* Roscoe) ส่วนราก เหง้า ลำต้นเหนือดิน และใบ
4. ดาหลา (Torch ginger; *Etlingera elatior*) ส่วนราก ใบ ลำต้นเหนือดิน และดอก

จากนั้นนำตัวอย่างพืชวงศ์ขิงทั้ง 4 ชนิด มาแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ตามวิธีการของ Shimizu *et al.* (2000) ดังนี้

1. นำชิ้นส่วนพืชมาล้างคราบสิ่งสกปรกให้หมดด้วยน้ำไหล (running water) ให้สะอาด 30 นาที จากนั้นผึ่งลมให้แห้ง

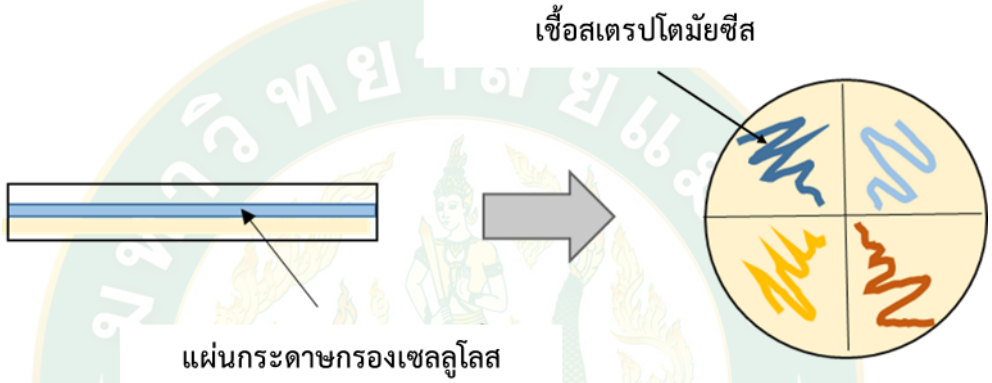
2. ตัดชิ้นส่วนใบและดอกให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร และรากยาว 1 เซนติเมตร ส่วนเหง้าหั่นเป็นชิ้นลักษณะคล้ายลูกเต๋ากว้างประมาณ 1 เซนติเมตร

3. นำชิ้นส่วนพืชไปแช่ในสารลดแรงตึงผิว (tween 20) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อพื้นผิวโดยการแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นนำมาแช่ ethanol ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และนำไปแช่ในสารละลาย sodium bicarbonate ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที

4. ซับและผึ่งชิ้นส่วนพืชให้แห้งโดยนำมาวางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และผึ่งลมให้แห้ง

5. วางชิ้นส่วนพืชบนอาหาร inhibitory mould agar-2 (IMA-2) จำนวน 15 ชิ้นต่อ จานอาหาร และบ่มไว้ในตู้มืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน

6. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่เจริญบนชิ้นส่วนพืชขีดลงบนแผ่นกระดาษกรองเซลลูโลส (cellulose membrane filter) ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ที่วางบนหน้าอาหาร International streptomyces project-2 medium (ISP-2) บ่มไว้ในตู้มืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้เชื้อ *Streptomyces* sp. จะสามารถเจริญผ่านกระดาษกรองไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำแผ่นกรองเซลลูโลสออก (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 การขีดเชื้อ *Streptomyces* sp. หน้าอาหาร ISP-2 ที่วางด้วยแผ่นกรองเซลลูโลส
ที่มา : ฉัตรสุดา (2551)

7. บันทึกข้อมูลจำนวนชิ้นส่วนพืชที่แยกได้จากพืชวงศ์ขิงที่มีเชื้อ *Streptomyces* sp. เจริญออกมา และคำนวณหาค่าอัตราการเจริญของกลุ่มเชื้อ *Streptomyces* sp. (colonization rate) โดยแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{colonization rate (\%)} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่เกิดโคโลนี}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมด}} \times 100$$

8. ตรวจสอบดูลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

การทดลองที่ 3 การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp.

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ complete randomized design (CRD) โดยมี 39 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ประกอบด้วยเชื้อรา *P. aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท และเชื้อ *Streptomyces* sp. แยกได้จากพืชวงศ์ขิง จำนวน 12 ไอโซเลท ดังนี้

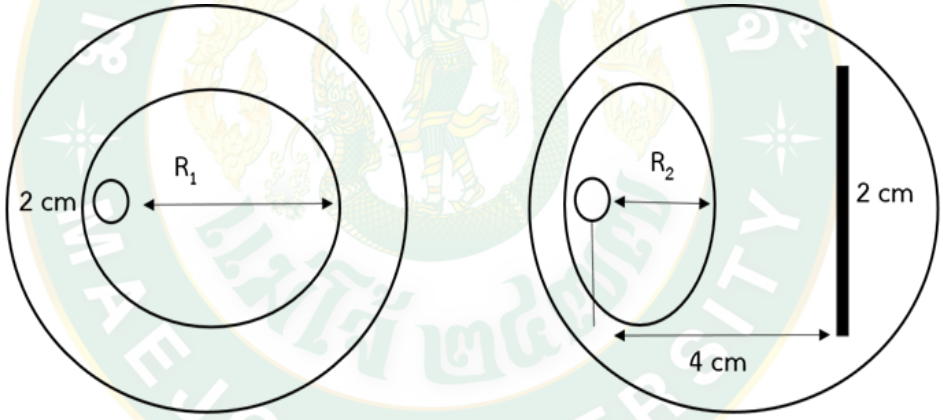
ชุดควบคุม		
เลี้ยงเชื้อเฉพาะสาเหตุโรค *P. aphanidermatum*		
1. *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1	14. *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2	27. *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3
ชุดทดสอบ		
เลี้ยงเชื้อสาเหตุโรค *P. aphanidermatum* กับเชื้อ *Streptomyces* sp. ด้วยวิธี dual culture		
2. *Streptomyces* sp. CU-01	15. *Streptomyces* sp. CU-01	28. *Streptomyces* sp. CU-01
3. *Streptomyces* sp. CU-02	16. *Streptomyces* sp. CU-02	29. *Streptomyces* sp. CU-02
4. *Streptomyces* sp. CU-03	17. *Streptomyces* sp. CU-03	30. *Streptomyces* sp. CU-03
5. *Streptomyces* sp. AL-01	18. *Streptomyces* sp. AL-01	31. *Streptomyces* sp. AL-01
5. *Streptomyces* sp. AL-02	19. *Streptomyces* sp. AL-02	32. *Streptomyces* sp. AL-02
7. *Streptomyces* sp. ZI-01	20. *Streptomyces* sp. ZI-01	33. *Streptomyces* sp. ZI-01
8. *Streptomyces* sp. ZI–02	21. *Streptomyces* sp. ZI–02	34. *Streptomyces* sp. ZI–02
9. *Streptomyces* sp. ET-01	22. *Streptomyces* sp. ET-01	35. *Streptomyces* sp. ET-01
10. *Streptomyces* sp. ET-02	23. *Streptomyces* sp. ET-02	36. *Streptomyces* sp. ET-02
11. *Streptomyces* sp. ET-03	24. *Streptomyces* sp. ET-03	37. *Streptomyces* sp. ET-03
12. *Streptomyces* sp. ET-04	25. *Streptomyces* sp. ET-04	38. *Streptomyces* sp. ET-04
13. *Streptomyces* sp. ET-05	26. *Streptomyces* sp. ET-05	39. *Streptomyces* sp. ET-05

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ตามวิธีการของ Cao *et al*. (2005) ดังนี้

1. นำเชื้อ *Streptomyces* sp. ขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 โดยให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร จากนั้นบ่มไว้ในตู้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้เชื้อเจริญเป็นโคโลนีที่สมบูรณ์และสร้างสารปฏิชีวนะ

2. การเตรียมชุดควบคุมโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนบริเวณโคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ให้ห่างจากขอบอาหาร 2 เซนติเมตร การเตรียมชุดทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียเชื้อสเตรปโตมัยซีสที่โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนบริเวณโคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ให้ห่างจากขอบอาหาร 2 เซนติเมตร และวางห่างจากเชื้อ *Streptomyces* sp. 4 เซนติเมตร (ภาพที่ 8)

3. บันทึกผลโดยวัดบริเวณการยับยั้ง (Clear Zone) โดยวัดขนาดรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุมและชุดทดสอบ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) ตามอ้างอิงของ Kabir *et al.*, (2012) ดังนี้



ชุดควบคุม ชุดทดสอบ

ภาพที่ 8 การวัดผลการการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี dual culture

$$\text{การคำนวณการยับยั้งการเจริญ (PIRG)} = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$

R_1 คือ รัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดควบคุม

R_2 คือ รัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดทดสอบ

การประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งจากค่า PIRG เพื่อคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งระดับสูงถึงสูงมาก เพื่อนำไปศึกษาขั้นต่อไป ดังนี้

การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (PIRG)	ประสิทธิภาพการยับยั้ง
> 75 เปอร์เซ็นต์	ระดับสูงมาก
> 61-75 เปอร์เซ็นต์	ระดับสูง
> 51-60 เปอร์เซ็นต์	ระดับปานกลาง
< 50 เปอร์เซ็นต์	ระดับต่ำ

ที่มา : (ร่มสุรีย์ และสรัญยา, 2559)

การทดลองที่ 4 การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design: CRD) ซึ่งทำการทดลองโดยนำเมล็ดผักกาดขาวปลีมาเคลือบด้วยสารเคลือบ CMC ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. โดยมี 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดไม่เคลือบ (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %)
กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-02 ($1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-02 ($1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-02 ($1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-03 ($1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-03 ($1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)
กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-03 ($1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

1. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อรามีอายุ 2 วัน ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย จำนวน 2 ชิ้น ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคลงในพีทมอส 150 กรัม ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ก่อนนำมาเพาะเมล็ด

2. การเตรียมเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 เลี้ยงในจานอาหาร ISP-2 โดยใช้ลูปแตะเชื้อแล้วนำมาขีดให้ทั่วผิวหน้าอาหาร (streak plate) และนำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใช้ลูปขูดผิวหน้าอาหารให้ทั่ว เพื่อให้สปอร์หลุด แล้วดูดน้ำสปอร์แขวนลอย วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $OD_{0.1}$ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ 3 ระดับคือ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอไซเลท CU-02 และ CU-03 โดยนำเมล็ดผักกาดขาวปลีฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำเมล็ดผักกาดขาวปลีมาเคลือบเมล็ด โดยใช้สารละลาย CMC ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นสารเคลือบเมล็ด สัดส่วนที่ใช้สำหรับเคลือบเมล็ด 10 กรัม ดัง ตารางที่ 2 หลังจากการเคลือบเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีแล้วนำไปลดความชื้นเมล็ดในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48

ชั่วโมง โดยการผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำเมล็ดไปเพาะในวัสดุเพาะที่เตรียมใส่เชื้อราสาเหตุโรคไว้ตามข้อที่ 1 เพื่อประเมินผลความงอกและการเกิดโรค

ตารางที่ 1 สัดส่วนการเคลือบเมล็ดพันธุ์ของผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp.

กรรมวิธี	สัดส่วนการเคลือบเมล็ดของผักกาดขาวปลี (มิลลิลิตร)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Carboxymethyl cellulose 0.2 %	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Streptomyces sp. CU-02 1x10^6	-	-	1	-	-	-	-	-
Streptomyces sp. CU-02 1x10^7	-	-	-	1	-	-	-	-
Streptomyces sp. CU-02 1x10^8	-	-	-	-	1	-	-	-
Streptomyces sp. CU-03 1x10^6	-	-	-	-	-	1	-	-
Streptomyces sp. CU-03 1x10^7	-	-	-	-	-	-	1	-
Streptomyces sp. CU-03 1x10^8	-	-	-	-	-	-	-	1
น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	-	99.8	98.8	98.8	98.8	98.8	98.8	98.8

4. การบันทึกผล ตรวจสอบคุณสมบัติของสารเคลือบ ความมีชีวิตของเชื้อหลังเคลือบกับเมล็ดพันธุ์ จากนั้นทำการประเมินระดับความแรงรุนของโรค เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค และประเมินการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีในสภาพโรงเรือน ดังนี้

4.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารเคลือบ

ตรวจสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH) สปอร์แขวนลอยของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 1x10^6, 1x10^7 และ 1x10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารเคลือบ CMC และสารเคลือบ CMC ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อ *Streptomyces* sp. โดยการวัดด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter) ในแต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ

4.2 ตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อ *Streptomyces* sp.

สุ่มเมล็ดผักกาดขาวปลีจากแต่ละกรรมวิธีมา 20 เมล็ด ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixture เพื่อให้เชื้อหลุดออกจากผิวเมล็ด แล้วดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดและใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้ทั่วเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร ISP-2 แล้วทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน เชื้อจะเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 มิลลิลิตร แล้วใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดผิวหน้าอาหารให้ทั่ว เพื่อให้สปอร์หลุด หลังจากนั้นดูดน้ำสปอร์แขวนลอย ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

4.3 การประเมินระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดเน่า ตามวิธีของ Drizou *et al.*, (2017) โดยมีระดับคะแนน 0-5 ดังนี้

ระดับ 0 หมายถึง ไม่เป็นโรค

ระดับ 1 หมายถึง เป็นโรค 1-10 % (มีรอยแผลขนาดเล็กบนเมล็ด)

ระดับ 2 หมายถึง เป็นโรค 11-25 % (มีรอยแผลและเมล็ดเปลี่ยนสีน้ำตาล)

ระดับ 3 หมายถึง เป็นโรค 26-50 % มีรอยแผล เมล็ด และรากเปลี่ยนสีน้ำตาล)

ระดับ 4 หมายถึง เป็นโรคมากกว่า 50 % (เมล็ดและรากเน่ามีเมือกเยิ้ม)

ระดับ 5 หมายถึง เป็นโรคจนตาย (เมล็ดและรากเน่ามีเมือกเยิ้มและจุดสีดำ)

ภาพที่ 9 ระดับความรุนแรงของโรคระยะก่อนเมล็ดงอก (pre-emergence damping off) ผักกาดขาวปลีอายุ 4 วัน

4.4 การประเมินระดับความรุนแรงของโรคเน่าคอดิน ตามวิธีของ Drizou *et al.,* (2017) โดยมีระดับคะแนน 0-5 ดังนี้

ระดับ 0 หมายถึง ไม่เป็นโรค

ระดับ 1 หมายถึง เป็นโรค 1-10 % (ใบเหี่ยว)

ระดับ 2 หมายถึง เป็นโรค 11-25 % (ใบเหี่ยวมากกว่า 1 ใบ)

ระดับ 3 หมายถึง เป็นโรค 26-50 % (ใบเหี่ยวและโคนต้นมีรอยช้ำ)

ระดับ 4 หมายถึง เป็นโรคมากกว่า 50 % (ใบเหี่ยว โคนต้นมีรอยช้ำ และหักพับ)

ระดับ 5 หมายถึง เป็นโรคจนตาย (ต้นหักพับและเน่า)

ภาพที่ 10 ระดับความรุนแรงของโรคในระยะต้นกล้า (post-emergence damping off) ในผักกาดขาวปลีอายุ 14 วัน

นำคะแนนความรุนแรงของโรคมาคำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค (Vincelli and Hershman, 2011) และคัดเลือกไอโซเลทที่มีดัชนีการเกิดโรคน้อยที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคมากที่สุดเพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับความรุนแรง)}}{\text{(จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับความรุนแรงสูงสุด)}} \text{ X 100}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค} = \frac{\text{ดัชนีการเกิดโรค (ชุดควบคุม) - ดัชนีการเกิดโรค (ชุดทดสอบ)}}{\text{ดัชนีการเกิดโรค (ชุดควบคุม)}} \text{ X 100}$$

4.5 ตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์

การตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาพโรงเรือน ในแต่ละวิธีการทดลองทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 ต้น โดยทำการตรวจนับความงอกต้นกล้าปกติ เป็นระยะเวลา 14 วันหลังเพาะ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \text{ X100}$$

1.6 ประเมินการเจริญของต้นกล้าโดยการวัดความยาวของรากและต้น

วัดความยาวรากตั้งแต่ปลายรากถึงรอยต่อระหว่างโคนต้น และความยาวยอดวัดจากส่วนโคนตั้งแต่บริเวณรอยต่อกับส่วนรากขึ้นมาจนถึงปลายใบ (foliage leaf) ในแต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น

การทดลองที่ 5 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp.

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD ซึ่งมี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 การเคลือบเมล็ด ประกอบด้วย เมล็ดไม่เคลือบ เมล็ดเคลือบด้วย CMC 0.2 % และ เมล็ดเคลือบด้วย CMC 0.2 % ร่วมกับ CU-02 ($1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษา ได้แก่ อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส โดยมี 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดไม่เคลือบ	เก็บรักษาที่ 4 ℃
กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %)	
กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-02 ($1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	
กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดไม่เคลือบ	เก็บรักษาที่ 25 ℃
กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %)	
กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดเคลือบด้วย CMC (0.2 %) ร่วมกับ CU-02 ($1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในทุกกรรมวิธีได้บรรจุเมล็ดในถุงฟอยด์อลูมิเนียมแล้วปิดผนึกให้สนิท เพื่อป้องกันการถ่ายเทความชื้นระหว่างเมล็ดกับสภาพอากาศ ในระหว่างการเก็บรักษา ทำการสุ่มเมล็ดพันธุ์ออกมาตรวจสอบทุกเดือนเป็นระยะเวลา 6 เดือน เพื่อตรวจสอบ ความมีชีวิตของเชื้อหลังเคลือบกับเมล็ดพันธุ์ ประเมินระดับความแรงรุนของโรค เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค โดยใช้พืทมอสที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 อยู่แล้ว และประเมินผลต่าง ๆ มีขั้นตอนและวิธีการดังนี้

1 ตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อ *Streptomyces* sp.

สุ่มเมล็ดผักกาดขาวปลีจากแต่ละกรรมวิธีมา 20 เมล็ด ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixture เพื่อให้เชื้อหลุดออกจากผิวเมล็ด แล้วดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดและใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยให้ทั่วเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร ISP-2 แล้วทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน เชื้อจะเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 มิลลิลิตร แล้วใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดผิวหน้าอาหารให้ทั่วเพื่อให้สปอร์หลุด หลังจากนั้นดูดน้ำสปอร์แขวนลอย ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

2. การประเมินระดับความรุนแรงของโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับความรุนแรง)}}{\text{(จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับความรุนแรงสูงสุด)}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค} = \frac{\text{ดัชนีการเกิดโรค (ชุดควบคุม) - ดัชนีการเกิดโรค (ชุดทดสอบ)}}{\text{ดัชนีการเกิดโรค (ชุดควบคุม)}} \times 100$$

3. ตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์

การตรวจสอบความงอกในสภาพโรงเรือน ในแต่ละวิธีการทดลองทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 ต้น จากนั้นตรวจนับความงอกต้นกล้าปกติ เป็นระยะเวลา 14 วันหลังเพาะ

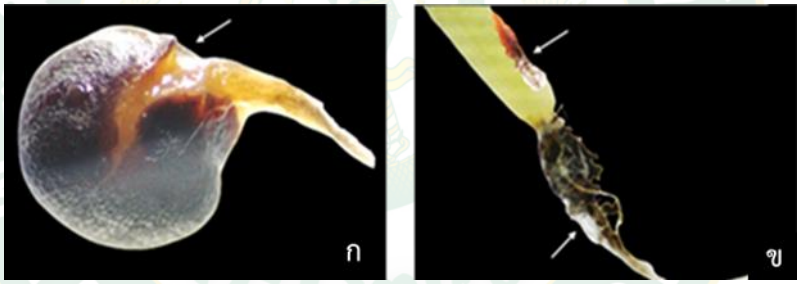
$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \times 100$$

4. ประเมินการเจริญของต้นกล้าโดยการวัดความยาวของรากและต้น วัดความยาวรากตั้งแต่ปลายรากถึงรอยต่อระหว่างโคนต้น และความยาวยอดวัดจากส่วนโคนตั้งแต่บริเวณรอยต่อกับส่วนรากขึ้นมาจนถึงปลายใบ (foliage leaf) แต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

ผลการสำรวจและการเก็บตัวอย่างผักกาดขาวปลีที่เป็นโรคเน่าในระยะก่อนเมล็ดงอก และระยะต้นกล้าจากแหล่งปลูกที่ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก พบลักษณะอาการเมล็ดเน่าและต้นกล้าเน่ามากในแปลงปลูก และจากการนำตัวอย่างต้นพืชและดินบริเวณโดยรอบของต้นกล้าที่เป็นโรคมาทำการแยกเชื้อสาเหตุโรค พบเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท และเมื่อนำมาทำการพิสูจน์โรค พบว่าหลังการเพาะเมล็ด 4 วัน เชื้อเริ่มเข้าทำลายเมล็ด ซึ่งสังเกตพบอาการเมล็ดเน่าและตายก่อนงอก (seed rot) (ภาพที่ 11 ก) ในขณะที่เมื่อต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่งอกขึ้นมาแล้วภายใน 14 วัน หลังเพาะเมล็ด เชื้อสามารถเข้าทำลายในระยะกล้าได้โดยพบลักษณะการเกิดโรคเน่าคอดิน (damping-off) คือ ที่บริเวณโคนต้นกล้ามีแผลช้ำสีน้ำตาล และมีการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ไม่ปกติ ต้นไม่โต (ภาพที่ 11 ข)

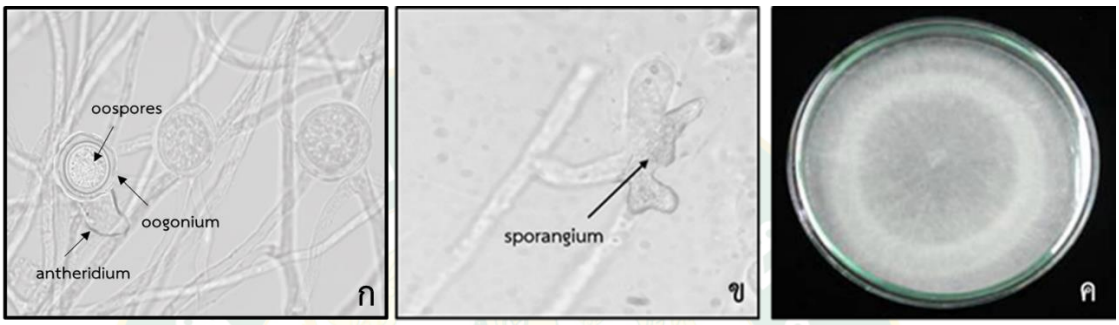


ภาพที่ 11 ลักษณะอาการของเกิดโรคในระยะเมล็ดและระยะต้นกล้าของผักกาดขาวปลี

(ก) โรคเมล็ดเน่า (seed rot)

(ข) โรคเน่าคอดิน (damping-off)

จากการส่องดูเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะเส้นใยมีสีขาวไม่มีผนังกั้น สร้าง oospore รูปร่างทรงกลมมีผนังหลายชั้น ผิวเรียบ สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (ภาพที่ 12 ก) และสำหรับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา *P. aphanidermatum* จะสร้าง sporangium ซึ่งมีลักษณะเป่งเป็น load ที่ไม่สม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยปกติ ซึ่งลักษณะแบบนี้เรียกว่า lobate inflated sporangium (ภาพที่ 12 ข) (Al-Sheikh, 2010) และการเจริญของเส้นใยฟูหนาแน่น เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่ออายุ 2 วัน (ภาพที่ 12 ค)



ภาพที่ 12 ลักษณะของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

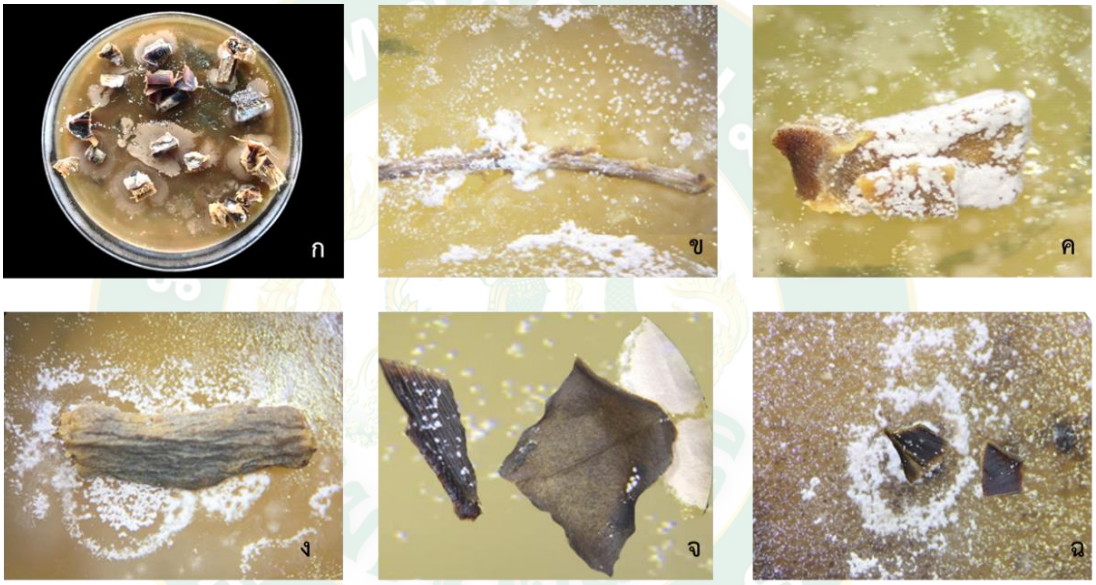
(ก) การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ

(ข) การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

(ค) การเจริญของเส้นใย

การทดลองที่ 2 การแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง

การแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากส่วนราก เหง้า ลำต้นเหนือดิน ใบ และดอก จากพืชวงศ์ขิง ทั้ง 4 ชนิด คือ กระเจียวแดง (*Curcuma sessilis* Gage) ข่า (*Alpinia galanga)* ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) และดาหลา (*Etlingera elatior*) ด้วยวิธีการบ่มชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 1 เดือน ผลพบว่าโคโลนีที่ได้มีลักษณะคล้ายผงแป้งขึ้นบนชิ้นส่วนพืชและผิวหน้าอาหาร (ภาพที่ 13) จากนั้นนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร ISP-2 และผลที่ได้สามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลท โดยสามารถแยกเชื้อจากกระเจียวแดง 3 ไอโซเลท ข่า 2 ไอโซเลท ขิง 2 ไอโซเลท และดาหลา 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 13)



ภาพที่ 13 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่เจริญบนชิ้นส่วนพืช

(ก) ชิ้นส่วนพืชบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 1 เดือน

(ข) ราก

(ค) เหง้า

(ง) ลำต้นเหนือดิน

(จ) ใบ

(ฉ) ดอก

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดบนอาหาร ISP-2

ชนิดพืช	จำนวนไอโซเลทที่ตรวจพบ					CR[1] (%)
	ราก	เหง้า	ลำต้นเหนือดิน	ใบ	ดอก	
กระเจียวแดง	0	-	-	3	0	25.00
ขิง	0	1	0	1	-	16.66
ข่า	0	0	0	2	-	16.66
ดาหลา	1	-	1	1	2	41.66
CR[2] (%)	8.33	8.33	8.33	58.33	16.67	100

หมายเหตุ

CR[1] (colonization rate) = เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากพืชแต่ละชนิด (กระเจียวแดง ขิง ข่า และ ดาหลา)

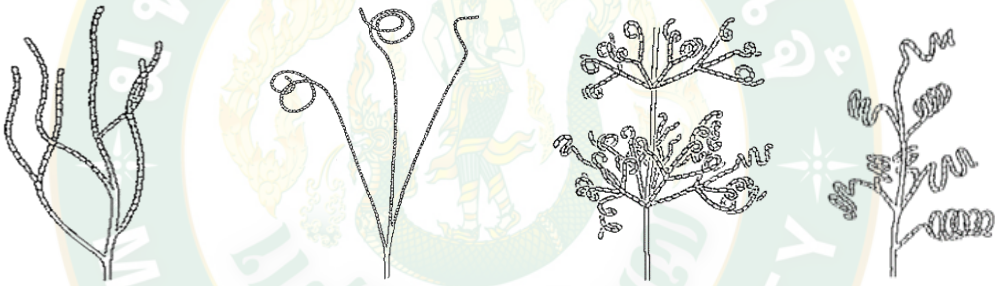
CR[2] (colonization rate) = เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากชิ้นส่วนต่างๆ ของพืช

0 = ไม่พบ

- = ไม่ได้ศึกษา

การจัดจำแนกเชื้อ *Streptomyces* sp. ตามลักษณะสีโคโลนีและการจัดเรียงตัวของสปอร์

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ Streptomyces sp. ได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลท โดยบันทึกสีโคโลนี ลักษณะเส้นใยอากาศ และตรวจสอบลักษณะรูปแบบการจัดเรียงเส้นสายสปอร์ (spore chain) ที่แตกต่างกัน ตามวิธีการของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 4 (Williams et al., 1983) ได้แก่ แบบลักษณะสปอร์เป็นสายตรงหรือโค้งงอเล็กน้อย (rectiflexibiles type) แบบลักษณะสายสปอร์ม้วนเป็นวงคล้ายตะขอปลายเปิดหรือปลายปิด ประมาณ 2-3 รอบ (retretinaculiaperti type) แบบลักษณะสายสปอร์บิดเป็นเกลียวคล้ายสปริงชิดกันแน่นหรือเกลียวหลวม ๆ และมีปลายเปิด (spiral type) และลักษณะสายสปอร์แตกแขนงออกเป็นช่อ (verticillati type) (ภาพที่ 14) หลังการจัดจำแนกเชื้อแล้วได้ตั้งชื่อแต่ละ ไอโซเลทตามอักษร 2 ตัวหน้าของชื่อวิทยาศาสตร์พืชอาศัย และตามด้วยตัวเลขของจำนวนไอโซเลทที่พบโดยแต่ละไอโซเลท มีลักษณะโคโลนีและการเจริญของเชื้อ



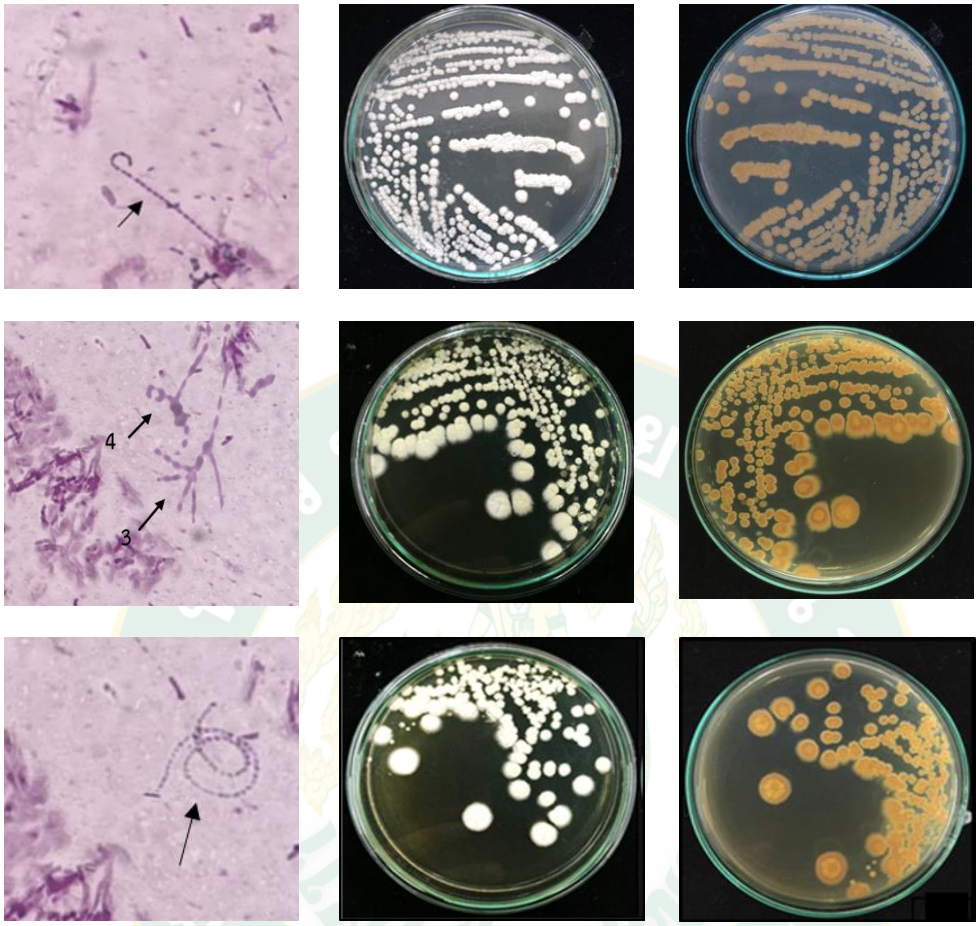
rectiflexibiles type (1) retretinaculiaperti type (2) verticillati type (3) spiral type (4)

ภาพที่ 14 ลักษณะรูปแบบการจัดเรียงสปอร์ของเชื้อ *Streptomyces* sp.
ที่มา : Li *et al.* (2016)

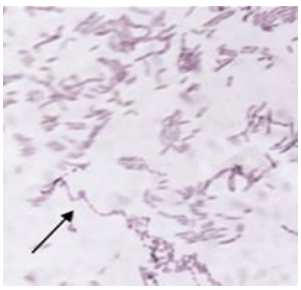
ลักษณะของโคโลนีของเชื้อ *Streptomyces* sp. บนอาหาร ISP-2 เจริญสม่ำเสมอตามแนวขีด (streak) ซึ่งโคโลนีมีลักษณะคล้ายผงแป้ง ขอบโคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใยปุยฟูคล้ายเชื้อรา เมื่อส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์คล้ายลูกโซ่ประมาณ 20 สปอร์ขึ้นไป แต่ลักษณะบางประการแตกต่างกันตามข้อมูลใน ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 15-18

ตารางที่ 3 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากพืชวงศ์ขิง

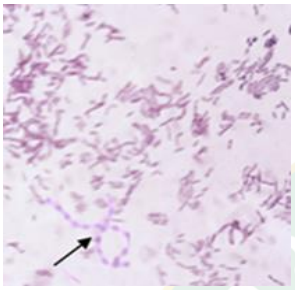
ไอโซเลท	ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	รูปแบบการเรียงสปอร์
CU-01	กระเจียวแดง	ใบ	rectiflexibiles type (1)
CU-02	กระเจียวแดง	ใบ	verticillati type (3)
			Spiral type (4)
CU-03	กระเจียวแดง	ใบ	retinaculiaperti type (2)
ZI-01	ขิง	เหง้า	spiral type (4)
ZI-02	ขิง	ใบ	retinaculiaperti type (2)
AI-01	ข่า	ใบ	rectiflexibiles type (1)
AI-02	ข่า	ใบ	rectiflexibiles type (1)
EI-01	ดาหลา	ราก	rectiflexibiles type (1)
			spiral type (4)
EI-02	ดาหลา	ลำต้นเหนือดิน	rectiflexibiles type (1)
EI-03	ดาหลา	ใบ	rectiflexibiles type (1)
EI-04	ดาหลา	ดอก	retinaculiaperti type (2)
EI-05	ดาหลา	ดอก	spiral type (4)



ภาพที่ 15 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากต้นกระเจียวแดง



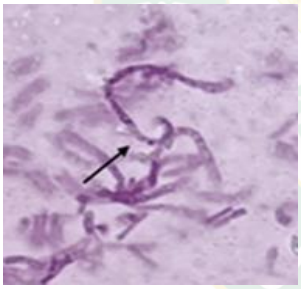
ZI-01

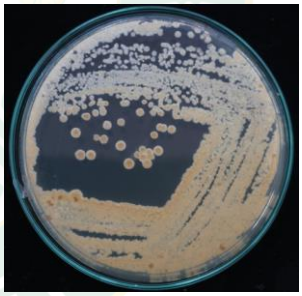


ZI-02

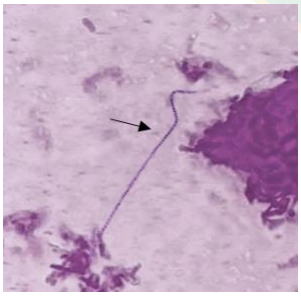
รูปแบบการเรียงสปอร์ เส้นใยเหนือผิวอาหาร เส้นใยใต้ผิวอาหาร

ภาพที่ 16 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากต้นขิง





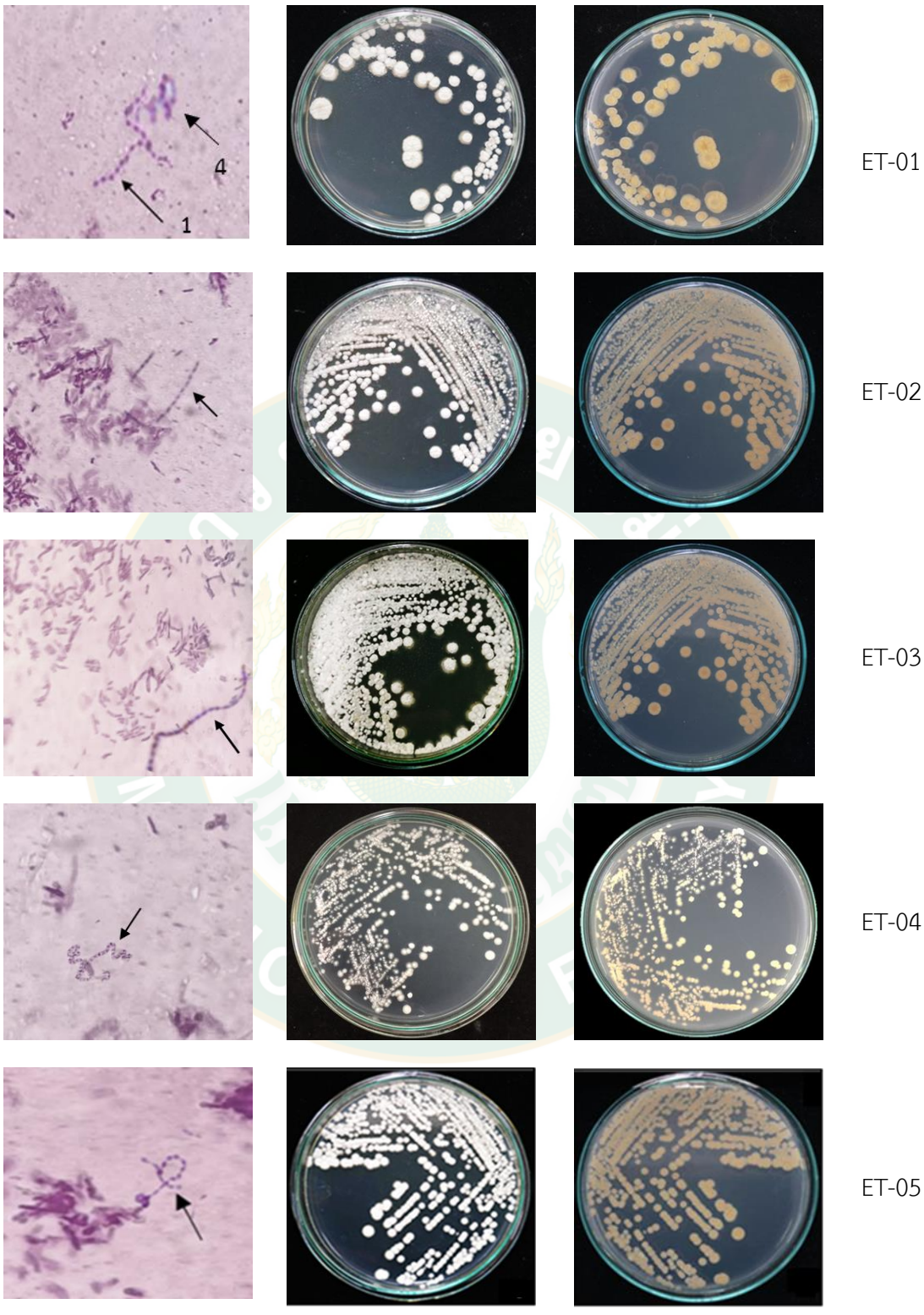
AI-01



AI-02

รูปแบบการเรียงสปอร์ เส้นใยเหนือผิวอาหาร เส้นใยใต้ผิวอาหาร

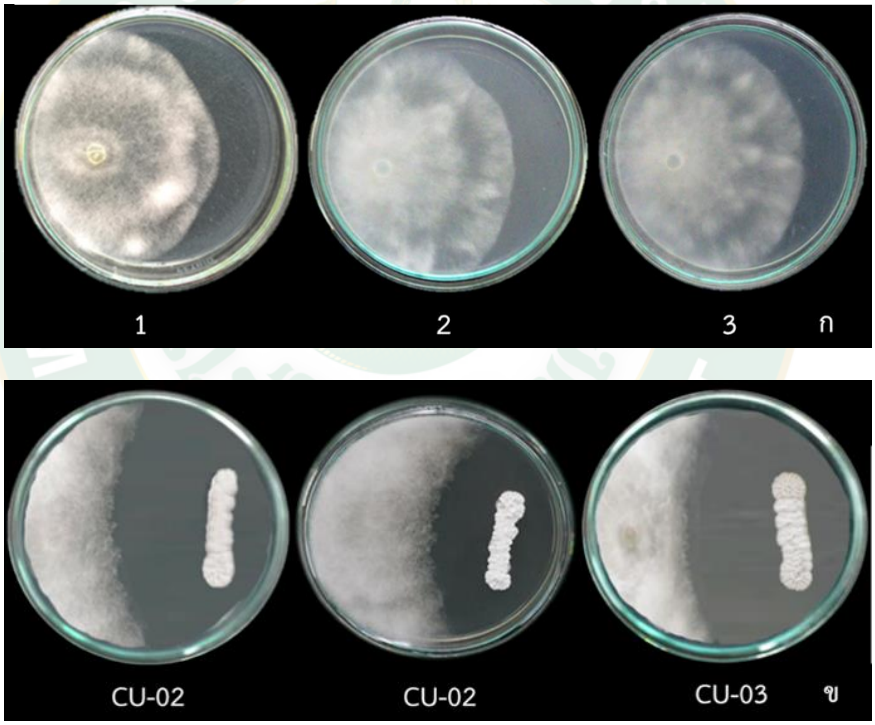
ภาพที่ 17 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากต้นข่า



ภาพที่ 18 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากต้นดาหลา

การทดลองที่ 3 การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp.

การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 12 ไอโซเลท โดยทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินของผักกาดขาวปลี ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราพิเทียมได้ในระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) และพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ไอโซเลท 1 และ 2 ในระดับสูง คือ 70.99 และ 68.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลท CU-03 มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ไอโซเลท 3 ระดับสูง คือ 70.60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 19 ก และภาพที่ 19 ข)



ภาพที่ 19 ลักษณะการการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03

(ก) ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่ไม่ได้เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. (ชุดควบคุม)
(ข) ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 (ชุดทดสอบ)

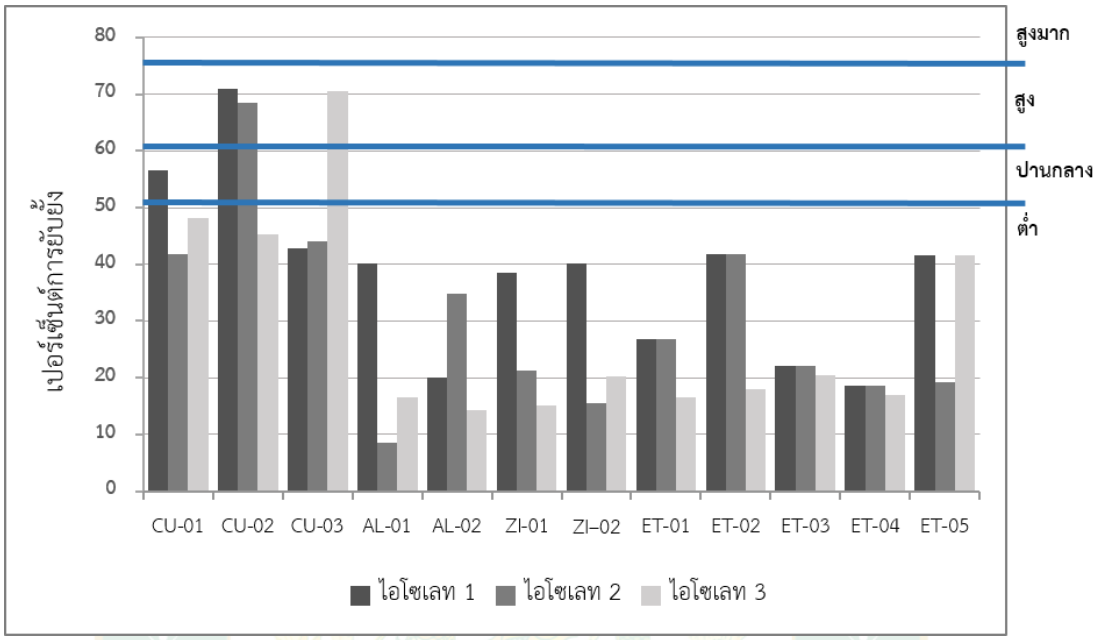
ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท สาเหตุโรคในผักกาดขาวปลี โดยเชื้อ *Streptomyces sp*. จำนวน 12 โอโซเลท

Streptomyces sp. ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* โอโซเลท		
	1	2	3
CU-01	56.65^{b}	41.77^{b}	48.12^{b}
CU-02	70.99^{a}	68.55^{a}	45.28^{b}
CU-03	42.86^{c}	44.07^{b}	70.60^{a}
AL-01	40.12^{c}	8.51^{g}	16.49^{def}
AL-02	20.06^{de}	34.74^{c}	14.27^{f}
ZI-01	38.51^{c}	21.26^{def}	15.19^{ef}
ZI–02	40.19^{c}	15.54^{f}	20.26^{c}
ET-01	26.85^{d}	26.85^{d}	16.55^{def}
ET-02	41.89^{c}	41.89^{b}	17.97^{cde}
ET-03	22.00^{de}	22.00^{de}	20.45^{c}
ET-04	18.65^{e}	18.65^{ef}	17.05^{cdef}
ET-05	41.58^{c}	41.58^{b}	19.15^{cd}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*
$LSD_{0.05}$	7.20	6.32	3.62
CV (%)	13.07	13.72	9.43

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

จากผลการทดลองข้างต้นได้คัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. โอโซเลท CU-02 และ CU-03 ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งในระดับสูง เมื่อเทียบกับไอโซเลทอื่น ๆ เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* สภาพโรงเรือนต่อไป



ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. จำนวน 12 โอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

การทดลองที่ 4 การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

จากการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดปลีร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับสารเคลือบ CMC ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ รวมปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 10 กรัม หลังการเคลือบเมล็ดได้บันทึกผลการทดลองค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำสปอร์แขวนลอยและสารละลาย CMC ตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิต เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค ตรวจสอบความงอกของเมล็ด และประเมินการเจริญของต้นกล้าผักกาดขาวปลี ได้ผลการทดลองดังนี้

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลาย CMC แขวนลอยสปอร์และปริมาณเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่มีชีวิตหลังเคลือบเมล็ด

เมื่อทำการเตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีโดยใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 ในระดับความเข้มข้นที่ $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ แขวนลอยร่วมกับ CMC แล้วนำมาวัดค่า pH พบว่าค่า pH ของสปอร์แขวนลอยในทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และพบว่าความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยของเชื้อที่เพิ่มมากขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อที่มีชีวิตหลังการเคลือบเมล็ดที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยหลังการเคลือบเมล็ด พบปริมาณเชื้อที่อยู่ในช่วง $5.21 x10^6$ - $5.79 x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวจึงเลือกใช้ระดับความเข้มข้นที่ $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำและมีปริมาณเชื้อสูงที่สุดทั้งไอโซเลท CU-02 และ CU-03 คือ $5.76 x10^6$ และ $5.79 x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลาย CMC แขวนลอยสปอร์ และปริมาณเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ที่มีชีวิตหลังเคลือบเมล็ด

กรรมวิธี	การเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02		
	ความเป็นกรด-ด่าง		ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตหลังเคลือบ
	สปอร์แขวนลอย	CMC แขวนลอยสปอร์	($x10^6$) สปอร์ต่อมิลลิลิตร
CU-02 x 10^6	6.79	6.95	5.76
CU-02 x 10^7	6.82	6.86	5.51
CU-02 x 10^8	6.63	6.82	5.21
CU-03 x 10^6	6.89	7.15	5.79
CU-03 x 10^7	6.97	6.97	5.25
CU-03 x 10^8	6.55	6.91	5.27
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns
$LSD_{0.05}$	0.46	0.49	1.01
CV (%)	3.87	3.77	11.87

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หมายเหตุ : สารละลาย Carboxymethyl Cellulose (CMC) ค่า pH 7.05

ดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค

ผลการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 พบว่าเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 มีค่าดัชนีการเกิดโรคเมล็ดเน่าและการเกิดโรคเน่าคอดินลดลงมากที่สุด คือ 25.83 และ 23.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินได้สูงที่สุด คือ 73.51 และ 70.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้งค่าดัชนีการเกิดโรคและค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคในเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 21)

ตารางที่ 6 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 1			
	โรคเมล็ดเน่า (ระยะก่อนเมล็ดงอก)		โรคเน่าคอดิน (ระยะต้นกล้า)	
	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค
เมล็ดไม่เคลือบ	97.50[a]	0.00[c]	77.50[a]	0.00[c]
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	81.00[b]	16.93[b]	64.17[b]	17.20[b]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	25.83[c]	73.51[a]	23.75[c]	70.35[a]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	4.79	6.88	8.12	10.89
CV (%)	16.80	21.89	10.97	15.45

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ผลการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2 พบว่าเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 มีค่าดัชนีการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินลดลงมากที่สุด คือ 40.42 และ 31.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในได้สูงที่สุด คือ 55.09 และ 60.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้งค่าดัชนีการเกิดโรคและค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคในเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท CU-02 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC (ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 22)

ตารางที่ 7 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 2			
	โรคเมล็ดเน่า (ระยะก่อนเมล็ดงอก)		โรคเน่าคอดิน (ระยะต้นกล้า)	
	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค
เมล็ดไม่เคลือบ	90.00[a]	0.00[c]	80.00[a]	0.00[c]
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	80.00[b]	11.11[b]	63.12[b]	21.09[b]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	40.42[c]	55.09[a]	31.87[c]	60.15[a]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	9.73	10.18	8.61	9.45
CV (%)	10.44	16.90	10.70	14.75

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทีเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ผลการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี ที่เกิดจากปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 พบว่าเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 มีค่าดัชนีการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินลดลงมากที่สุด คือ 44.79 และ 36.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินได้สูงที่สุด คือ 47.30 และ 55.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้งค่าดัชนีการเกิดโรคและค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคในเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท CU-03 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC (ตารางที่ 8 และ ภาพที่ 23)

ตารางที่ 8 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 3			
	โรคเมล็ดเน่า (ระยะก่อนเมล็ดงอก)		โรคเน่าคอดิน (ระยะต้นกล้า)	
	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค
เมล็ดไม่เคลือบ	85.00[a]	0.00[c]	82.50[a]	0.00[c]
เมล็ดเคลือบเฉพาะCMC	82.50[a]	2.94[b]	64.17[b]	22.22[c]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-03	44.79[b]	47.30[a]	36.87[c]	55.30[a]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	1.19	2.67	3.39	5.28
CV (%)	10.55	26.77	11.93	19.54

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ความงอกของเมล็ดพันธุ์

ผลความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด คือ 74.16 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งมีความงอกของเมล็ดพันธุ์ 2.50 และ 19.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ผลความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2 พบว่าเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด คือ 55.20 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งมีความงอกของเมล็ดพันธุ์ 15.00 และ 17.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ผลความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด คือ 60.35 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC มีความงอกของเมล็ดพันธุ์ 10.00 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ความยาวต้นกล้า

ผลความยาวต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 พบว่ามีความยาวต้นสูงที่สุด 5.98 เซนติเมตร และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ที่มีความยาวต้น 3.52 และ 4.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ผลความยาวต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งความยาวต้นอยู่ในช่วง 4.41-4.55 เซนติเมตร (ตารางที่ 10)

ผลความยาวต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งความยาวต้นอยู่ในช่วง 4.50-4.61 เซนติเมตร (ตารางที่ 11)

ความยาวราก

ผลความยาวรากของต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 พบว่ามีความยาวรากของต้นกล้าสูงที่สุด คือ 3.17 เซนติเมตร และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ เมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ที่มีความยาวราก 1.91 และ 2.22 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ผลความยาวรากของต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งความยาวรากอยู่ในช่วง 1.90-2.25 เซนติเมตร (ตารางที่ 10)

ผลความยาวรากของต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่เมล็ดผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 แล้วนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อ *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบเฉพาะ CMC ซึ่งความยาวรากอยู่ในช่วง 1.91-2.25 เซนติเมตร (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 9 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท CU-02 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 1		
	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
เมล็ดไม่เคลือบ	2.50^{c}	3.52^{b}	1.91^{b}
เมล็ดเคลือบเฉพาะCMC	19.00^{b}	4.10^{b}	2.22^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	74.16^{a}	5.98^{a}	3.17^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*
$LSD_{0.05}$	5.79	0.65	1.79
CV (%	11.45	9.85	3.11

*มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 10 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 2

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 2		
	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
เมล็ดไม่เคลือบ	15.00[c]	4.41	1.90
เมล็ดเคลือบเฉพาะCMC	17.50[b]	4.49	2.10
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	55.20[a]	4.55	2.25
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	ns	ns
$LSD_{0.05}$	0.19	0.57	0.35
CV (%)	12.58	6.67	8.96

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

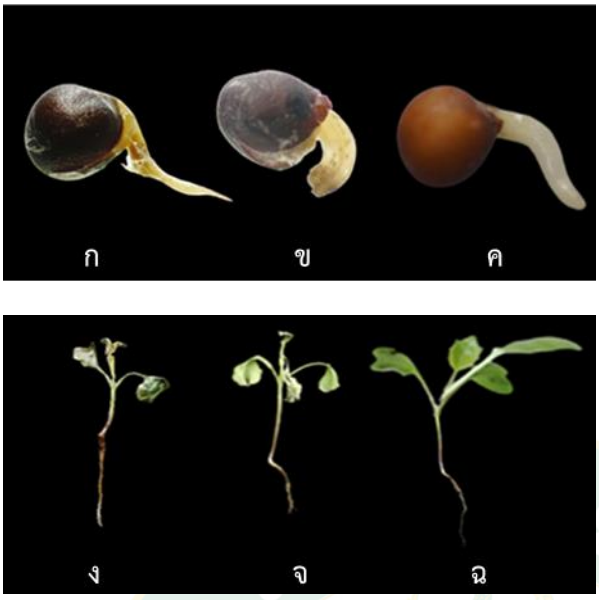
ตารางที่ 11 ผลการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-03 ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าหลังเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 3		
	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
เมล็ดไม่เคลือบ	10.00[c]	4.50	1.90
เมล็ดเคลือบเฉพาะCMC	20.00[b]	4.50	2.24
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-03	60.35[a]	4.61	2.25
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	ns	ns
$LSD_{0.05}$	6.72	0.56	0.35
CV (%	9.91	5.56	7.49

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)



4 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะก่อนเมล็ดงอก
(Pre- emergence damping off)

14 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะต้นกล้า
(Post- emergence damping off)

ภาพที่ 21 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 1
ก และ ง เมล็ดไม่เคลือบ
ข และ จ เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC
ค และ ฉ เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02

4 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะก่อนเมล็ดงอก
(Pre- emergence damping off)

14 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะต้นกล้า
(Post- emergence damping off)

ภาพที่ 22 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 2
ก และ ง เมล็ดไม่เคลือบ
ข และ จ เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC
ค และ ฉ เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02

4 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะก่อนเมล็ดงอก
(Pre- emergence damping off)

14 วันหลังเพาะเมล็ด
ระยะต้นกล้า
(Post- emergence damping off)

ภาพที่ 23 ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไอโซเลท 3
ก และ ง เมล็ดไม่เคลือบ
ข และ จ เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC
ค และ ฉ เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-03

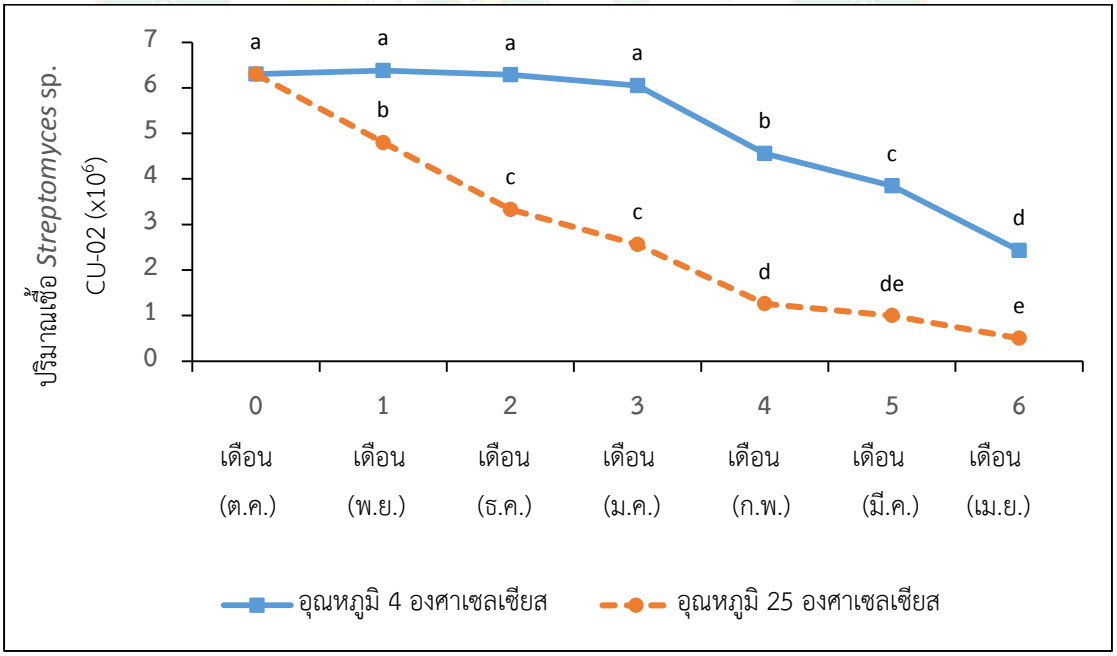
จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 สำหรับนำมาเคลือบเมล็ดร่วมกับ CMC เพื่อนำไปศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดในการทดลองที่ 5 เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมความงอก ความยาวราก และความยาวยอดของต้นกล้าได้ดีที่สุดในการทดลองนี้

การทดลองที่ 5 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp.

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีที่ผ่านการเคลือบเมล็ด โดยบรรจุเมล็ดในซองอลูมิเนียมฟอยด์ปิดผนึกกันความชื้น และเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เพื่อประเมินผลดัชนีการเกิดโรค เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค ความงอกของเมล็ด และการเจริญของต้นกล้าหลังนำมาเพาะในวัสดุที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 โดยทำการเพาะทดสอบในสภาพโรงเรือนทุกเดือนเป็นระยะเวลา 6 เดือน ได้ผลการทดลอง ดังนี้

ปริมาณเชื้อสเตรปโตมัยซีสไอโซเลท CU-02 ที่มีชีวิตหลังนำมาเคลือบเมล็ด

ผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ที่มีชีวิต พบว่าการเก็บรักษาเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อที่มีชีวิต อยู่ในช่วงเดือนที่ 0-3 ค่อนข้างสูงและคงที่ แต่ปริมาณเชื้อที่ตรวจสอบลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงเดือนที่ 4-6 ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับช่วงการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 3 เดือน ซึ่งมีปริมาณเชื้อที่มีชีวิตมากกว่า $6x10^6$ แต่สำหรับการเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อที่มีชีวิตลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 1-6 และผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับก่อนการเก็บรักษา คือที่ 0 เดือน (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ปริมาณเชื้อ *Streptomyces* sp. โซเลท CU-02 ที่มีชีวิตหลังการนำมาเคลือบเมล็ดและเก็บรักษาในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค

ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการเคลือบเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต่อดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่า พบว่าทั้งสองปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยในกรณีของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีผลต่อค่าดัชนีการเกิดโรคที่ต่ำตลอดระยะเวลา 6 เดือน แต่เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่ากลับพบว่า มีเฉพาะเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่านั้นที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคสูงที่สุดตลอดระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งในช่วง 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคที่สูงมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12 และ 13)

ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการเคลือบเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต่อดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดิน พบว่าทั้งสองปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยในกรณีของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลต่อค่าดัชนีการเกิดโรคที่ต่ำตลอดระยะเวลา 6 เดือน และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าคอดิน ยังคงพบว่ามีเฉพาะเมล็ดที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่านั้นที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคสูงที่สุดตลอดระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งในช่วง 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคที่สูงมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 14 และ 15)

ตารางที่ 12 ดัชนีการเกิดโรคเมล็ดเน่าในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
	0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด							
เมล็ดไม่เคลือบ	97.42^{a}	93.96^{a}	96.85^{a}	96.47^{a}	96.78^{a}	97.80^{a}	98.83^{a}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	80.51^{b}	82.13^{b}	82.78^{b}	85.86^{b}	92.56^{b}	90.26^{b}	96.50^{a}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	24.08^{c}	29.16^{c}	29.94^{c}	33.72^{c}	38.59^{c}	40.00^{c}	42.56^{c}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)							
4	67.22	65.79^{b}	67.61^{b}	69.39^{b}	75.31^{b}	79.02^{b}	84.75^{b}
25	67.76	71.04^{a}	72.10^{a}	74.64^{a}	77.64^{a}	83.36^{a}	89.42^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	*	*	*	*	*	*
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา							
เมล็ดไม่เคลือบ 4	97.62^{a}	92.92^{a}	96.96^{a}	97.18^{a}	96.87^{a}	97.80^{a}	98.86^{a}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 4	80.00^{b}	81.00^{b}	82.12^{b}	85.00^{b}	96.87^{b}	90.26^{ab}	96.00^{a}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 4	24.03^{c}	23.46^{c}	23.76^{c}	26.00^{c}	32.18^{c}	38.00^{c}	39.01^{c}
เมล็ดไม่เคลือบ 25	97.22^{a}	95.00^{a}	96.74^{a}	95.76^{a}	96.68^{a}	97.80^{a}	98.79^{a}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 25	81.01^{b}	83.26^{b}	83.44^{b}	86.72^{b}	88.24^{b}	90.26^{ab}	96.99^{a}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 25	25.05^{c}	34.86^{c}	36.12^{c}	41.44^{c}	45.00^{c}	42.00^{c}	46.12^{c}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	13.82	12.46	14.16	9. 72	13.74	9.16	12.43
CV. (%)	17.46	19.27	14.83	12.46	12.00	20.22	22.45

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง		ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
		0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด								
เมล็ดไม่เคลือบ		0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00 ^{c}	0.00 ^{c}	0.00^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC		16.85^{b}	15.83^{b}	14.69^{b}	10.99^{b}	8.32^{b}	6.86^{b}	2.86^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02		74.39^{a}	69.58^{a}	69.08^{a}	64.87^{a}	60.10^{a}	59.10^{a}	50.59^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)								
4		30.52	31.81^{a}	30.26^{a}	28.52^{a}	25.02^{a}	19.09^{a}	14.25^{a}
25		30.30	25.12^{b}	25.58^{b}	22.05^{b}	20.64^{b}	14.21^{b}	9.68^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		ns	*	*	*	*	*	*
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา								
เมล็ดไม่เคลือบ	4	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{d}	0.00^{d}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{d}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	4	17.02^{b}	19.65^{c}	15.30^{c}	12.53^{c}	8.27^{b}	7.79^{c}	2.89^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	4	74.54^{a}	75.79^{a}	75.49^{a}	73.02^{a}	66.78^{a}	61.14^{a}	60.54^{a}
เมล็ดไม่เคลือบ	25	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{d}	0.00^{d}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{d}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	25	16.68^{b}	12.00^{c}	14.07^{c}	9.44^{c}	8.37^{b}	5.92^{c}	2.82^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	25	74.23^{a}	63.36^{b}	62.66^{b}	56.72^{b}	53.54^{a}	57.72^{b}	53.32^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$		11.01	18.86	10.45	11.11	10.16	11.27	17.65
C.V. (%)		16.45	20.46	15.71	16.82	19.39	19.48	24.83

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 14 ดัชนีการเกิดโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
	0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด							
เมล็ดไม่เคลือบ	77.76[a]	76.96[a]	77.57[a]	77.87[a]	80.85[a]	83.00[a]	84.82[a]
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	63.03[b]	65.31[b]	67.41[b]	68.63[b]	73.16[b]	78.71[b]	81.10[b]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	22.05[c]	24.29[c]	25.91[c]	29.45[c]	40.19[c]	54.79[c]	65.53[c]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)							
4	53.81	54.92	56.41	57.96	61.45[b]	69.28[b]	73.71[b]
25	53.88	56.14	57.51	59.32	68.02[a]	75.11[a]	80.59[a]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns	ns	*	*	*
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา							
เมล็ดไม่เคลือบ 4	77.76[a]	76.06[a]	78.16[a]	77.62[a]	79.08[a]	83.06[a]	85.02[a]
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 4	63.96[b]	65.20[b]	65.96[b]	68.26[b]	70.16[b]	76.14[b]	79.46[ab]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 4	22.96[c]	23.51[c]	25.12[c]	27.99[c]	35.11[d]	48.65[d]	56.64[c]
เมล็ดไม่เคลือบ 25	77.76[a]	77.93[a]	76.98[a]	78.06[a]	82.63[a]	83.13[a]	84.62[a]
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 25	62.09[b]	65.42[b]	68.86[b]	68.99[b]	76.16[b]	81.27[a]	82.73[a]
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 25	22.04[c]	25.07[c]	26.69[c]	30.92[c]	45.27[c]	60.93[c]	74.42[b]
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	12.76	14.16	9.62	9.41	10.49	12.06	15.56
CV. (%)	20.76	18.06	17.84	14.66	17.39	22.06	26.77

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
	0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด							
เมล็ดไม่เคลือบ	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	18.67^{b}	14.62^{b}	13.77^{b}	11.81^{b}	9.55^{b}	5.26^{b}	4.37^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	70.96^{a}	68.92^{a}	66.59^{a}	62.16^{a}	50.19^{a}	34.06^{a}	22.72^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)							
4	43.91	42.24	41.78	37.97	33.44^{a}	24.86^{a}	19.94^{a}
25	45.72	41.30	40.58	36.00	26.30^{b}	14.47^{b}	7.14^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns	ns	*	*	*
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา							
เมล็ดไม่เคลือบ 4	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	0.00^{d}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 4	17.46^{b}	14.47^{b}	15.69^{b}	12.00^{b}	11.27^{c}	8.29^{c}	6.50^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 4	70.35^{a}	70.01^{a}	67.86^{a}	63.93^{a}	55.60^{a}	41.42^{a}	33.38^{a}
เมล็ดไม่เคลือบ 25	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	0.00^{d}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 25	19.88^{b}	14.76^{b}	11.84^{b}	11.61^{b}	7.83^{c}	2.23^{d}	2.23^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 25	71.56^{a}	67.83^{a}	65.32^{a}	60.38^{a}	44.77^{b}	26.70^{b}	12.05^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	11.48	12.34	7.46	9.47	8.16	13.23	17.21
CV. (%)	20.18	20.82	16.93	13.9	19.26	25.66	25.45

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ความงอกของเมล็ดพันธุ์

ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการเคลือบเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด พบว่าทั้งสองปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยในกรณีของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสูงที่สุดตลอดระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งในช่วง 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสูงมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

ความยาวต้น

ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการเคลือบเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต่อความยาวต้น พบว่าทั้งสองปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยในกรณีของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลต่อความยาวต้น สูงที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่นในช่วง 4-6 เดือน (ตารางที่ 17)

ความยาวราก

ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการเคลือบเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต่อความรากต้น พบว่าทั้งสองปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน โดยในกรณีของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลต่อความรากสูงที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่นตลอดระยะเวลา 6 เดือน (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 16 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีหลังเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยการทดลอง		ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
		0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด								
เมล็ดไม่เคลือบ		22.52^{c}	22.56^{c}	22.43^{c}	22.13^{c}	19.14^{c}	16.90^{c}	15.18^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC		36.98^{b}	34.69^{b}	33.07^{b}	31.38^{b}	26.84^{b}	18.30^{b}	19.41^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02		77.50^{a}	75.71^{a}	74.10^{a}	70.55^{a}	54.84^{a}	45.21^{a}	34.47^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)								
4		47.21	44.78	43.59	42.03	38.55^{a}	30.72^{a}	26.63^{a}
25		46.12	43.86	42.82	40.68	28.66^{b}	22.89^{b}	19.41^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		ns	ns	ns	ns	*	*	*
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา								
เมล็ดไม่เคลือบ	4	22.54^{c}	23.06^{c}	21.84^{c}	22.33^{c}	20.92^{cd}	16.94^{cd}	14.98^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	4	36.04^{b}	34.80^{b}	34.04^{b}	31.74^{b}	29.84^{c}	23.86^{c}	21.54^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	4	77.04^{a}	76.49^{a}	74.88^{a}	72.01^{a}	64.89^{a}	51.35^{a}	43.36^{a}
เมล็ดไม่เคลือบ	25	22.50^{c}	22.07^{c}	23.02^{c}	21.94^{c}	17.37^{d}	16.87^{cd}	15.38^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	25	37.91^{b}	34.58^{b}	32.14^{b}	31.01^{b}	23.84^{c}	12.73^{d}	17.27^{bc}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	25	77.96^{a}	74.93^{a}	73.31^{a}	69.08^{a}	44.78^{b}	39.07^{b}	25.58^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$		8.16	8.87	9.12	10.15	11.15	12.52	7.63
CV. (%)		22.15	18.55	14.58	17.52	15.77	16.34	12.88

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 17 ความยาวต้นกล้าผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง		ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
		0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด								
เมล็ดไม่เคลือบ		4.51	4.54	4.54	4.75	4.25	4.15	4.12
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC		4.82	4.56	4.32	4.49	4.15	4.04	4.14
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02		4.98	4.92	4.99	4.74	4.81	4.69	4.70
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)								
4		4.93	4.70	4.65	4.66	4.48	4.35	4.44
25		4.81	4.64	4.62	4.64	4.35	4.24	4.20
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา								
เมล็ดไม่เคลือบ	4	4.50	4.52	4.56	4.25	4.12^{c}	4.01^{c}	4.07^{c}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	4	4.69	4.60	4.32	4.56	4.14^{c}	4.03^{c}	4.14^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	4	4.01	4.99	4.98	4.91	5.19^{a}	5.00^{a}	5.12^{a}
เมล็ดไม่เคลือบ	25	4.52	4.56	4.52	4.75	4.45^{b}	4.30^{b}	4.17^{b}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	25	4.96	4.52	4.33	4.42	4.17^{c}	4.05^{c}	4.15^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	25	4.95	4.85	4.00	4.74	4.44^{b}	4.38^{b}	4.28^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)		ns	ns	ns	ns	*	*	*
$LSD_{0.05}$		0.21	0.58	1.72	0.40	2.51	5.55	4.75
CV. (%)		6.55	3.41	8.47	6.33	10.75	14.51	12.87

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

ตารางที่ 18 ความยาวรากของต้นกล้าผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบและเก็บรักษาเมล็ดในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ปัจจัยทดลอง	ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ด (เดือน)						
	0	1	2	3	4	5	6
การเคลือบเมล็ด							
เมล็ดไม่เคลือบ	2.98^{b}	2.92^{ab}	2.99^{ab}	2.54^{b}	2.51^{b}	2.39^{b}	2.45^{b}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC	2.10^{b}	2.10^{b}	2.20^{b}	2.30^{c}	2.20^{c}	2.00^{c}	1.70^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02	3.16^{a}	3.13^{a}	3.14^{a}	2.95^{a}	2.88^{a}	2.46^{a}	2.39^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
อุณหภูมิการเก็บรักษา (˚c)							
4	2.38	2.39	2.50	2.46	2.37	2.27	2.12
25	2.41	2.51	2.53	2.35	2.28	2.04	2.18
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
การเคลือบเมล็ด * อุณหภูมิการเก็บรักษา							
เมล็ดไม่เคลือบ 4	1.91^{c}	2.02^{c}	2.13^{c}	1.99^{c}	1.96^{c}	1.95^{c}	1.85^{b}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 4	2.05^{b}	2.04^{c}	2.25^{b}	2.27^{b}	2.17^{b}	2.09^{b}	1.73^{c}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 4	3.17^{a}	3.11^{a}	3.12^{a}	3.11^{a}	2.99^{a}	2.78^{a}	2.78^{a}
เมล็ดไม่เคลือบ 25	1.92^{c}	2.23^{b}	2.25^{b}	2.00^{c}	1.89^{c}	1.97^{c}	1.85^{b}
เมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC 25	2.15^{b}	2.17^{b}	2.19^{c}	2.25^{b}	2.18^{b}	2.00^{bc}	1.76^{b}
เมล็ดเคลือบ CMC ร่วมกับ CU-02 25	3.15^{a}	3.14^{a}	3.15^{a}	2.79^{b}	2.77^{a}	2.14^{b}	2.00^{b}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	*	*	*	*	*	*	*
$LSD_{0.05}$	2.45	5.89	5.28	9.75	4.28	9.45	11.52
CV. (%)	12.01	18.25	16.45	22.25	18.43	20.15	25.88

ns (non significance) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างต้นกล้าผักกาดขาวปลีที่แสดงอาการของโรคเน่าคอดิน จากแปลงปลูกในเขต อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ซึ่งเกษตรกรปลูกพืชซ้ำพื้นที่เดิมตลอดทำให้เกิดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคพืชและมีการระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูก โดยจากตัวอย่างพืชที่เก็บมาสามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคเน่าคอดินจากต้นกล้าผักกาดขาวปลี ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ได้จำนวน 3 ไอโซเลท และเมื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาพบลักษณะเส้นใยมีสีขาวไม่มีผนังกั้น มีการสร้าง oospore รูปร่างทรงกลมมีผนังหลายชั้น ผิวเรียบ (Grisanapundha, 1987; Al-Sheikh, 2010) มีส่วนขยายพันธุ์แบบทั้งอาศัยเพศ และแบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งเชื้อราจะสร้าง sporangium มีลักษณะเป่งเป็น load ที่ไม่สม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยปกติ ลักษณะแบบนี้เรียกว่า lobate inflated sporangium หรือ toruloid zoosporangium (Agrios, 2005) และการเจริญของเส้นใยฟูหนาแน่นเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่ออายุ 2 วัน เมื่อตรวจสอบความสามารถในการเกิดโรคพบว่าทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถก่อโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน โดยสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมบริเวณเนื้อเยื่อลำต้น และเข้าทำลายเนื้อเยื่อส่วนของ ลำต้น ราก และใบเลี้ยง ลักษณะอาการที่พบคือบริเวณชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช เป็นแผลช้ำเมื่อมีการเข้าทำลายระยะกล้าโดยพบว่าบริเวณโคนต้นผักกาดขาวปลีจะเน่า ลำต้นหักล้ม และเน่าตายทั้งต้น

จากการแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากพืชวงศ์ขิง ได้แก่ กระเจียวแดง ข่า ขิง และดาหลา โดยคัดเลือกต้นพืชที่สมบูรณ์ปราศจากโรค และแมลงมาทำการเลี้ยงเชื้อและคัดแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ได้จำนวน 12 ไอโซเลท โดยสามารถแยกเชื้อจากส่วนใบที่เลี้ยงบนอาหาร IMA-2 ได้มากที่สุดจำนวน 7 ไอโซเลท ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับ ฉัตรสุดา (2551) แยกเชื้อจากพืชสมุนไพร โดยพบเชื้อ *Streptomyces* sp. จากส่วนใบมากที่สุด 31 ไอโซเลท โดยเลี้ยงบนอาหาร IMA-2 เช่นเดียวกับ ศิริมาศ และเกวลิน (2557) ที่สามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. จากก้านใบของสตรอว์เบอร์รี่และกุหลาบ ได้จำนวน 23 และ 17 ไอโซเลท ตามลำดับ บนอาหาร IMA-2 จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้สูงที่สามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. ได้จากส่วนใบของพืช ทั้งนี้เนื่องจาก ประไพพิศ (2560) ได้รายงานว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. เหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณช่องว่างระหว่างเซลล์ของพืช (intercellular space) โดยแทรกเข้าไปบริเวณช่องว่างในชั้นพาเรนไคมา (parenchyma) และชั้นมีโซฟิลล์ (mesophyll) ที่พบเฉพาะในส่วนใบของพืชเท่านั้น และในรายงานของศิรินภา (2555) ที่ได้ทดสอบความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการเข้าอาศัยภายในเนื้อเยื่อของต้นส้ม พบว่าเส้นใยอากาศของ *Streptomyces* sp. สามารถแทงผ่านเข้าสู่ชั้นเนื้อเยื่อ และอาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ของปากใบ หลังการจากปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. 14 วัน ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้พบเชื้อ *Streptomyces* sp. ในส่วนใบมากที่สุด

การทดสอบความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินของผักกาดขาวปลี พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซท 1 และ 2 ได้ถึง 70.99 และ 68.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจัดอยู่ในระดับการยับยั้งที่สูง เช่นเดียวกับ ไอโซเลท CU-03 ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 3 ได้ถึง 70.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Hussini *et al.* (2019) ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเน่าคอดินของมะเขือเทศ โดยพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ถึง 75.00 เปอร์เซ็นต์ และจากงานวิจัยของ Baukaew *et al.* (2017) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. มีการสร้างเอนไซม์ β-1,3 glucanase เป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย β-1,3 glucan ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา *P. aphanidermatum* ทำให้การเจริญของเชื้อถูกยับยั้ง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* จำนวน 3 ไอโซเลท ในสภาพโรงเรือน และเมื่อทดสอบผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 และ CU-03 พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ร่วมกับ CMC มีผลทำให้ดัชนีการเกิดโรคลดลงและมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไอโซเลท 1 ได้ดีที่สุด ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hassanisaadi *et al*. (2021) ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินในระยะต้นกล้าของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน โดยใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ในการเคลือบเมล็ดมะเขือเทศนั้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินได้มีอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเชื้อ *Streptomyces* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชได้ดี และมีการควบคุมแบบแข่งขัน (competition) จากการใช้ปัจจัยในการดำรงชีวิต เช่น ที่อยู่อาศัย แหล่งอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน ตลอดจนการใช้ก๊าซออกซิเจนที่เกิดขึ้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคพืช ที่อยู่ในแหล่งอาศัยเดียวกัน (Srividya *et al*., 2012)

จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดย Suwitchayanon *et al*., (2018) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ถึง 4.49 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่เมล็ดผักกาดขาวปลีที่เคลือบด้วย *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 มีความยาวรากและความยาวต้นที่ดีกว่าเมล็ดไม่เคลือบ และเมล็ดเคลือบเฉพาะ CMC

การศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อดูประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดิน โดยการเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน ผลพบว่าความมีชีวิตของเชื้อ *Streptomyces* sp. เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อคงที่ในช่วง 1-3 เดือน และเริ่มลดลงในช่วง 4-6 เดือน แต่อย่างไรก็ตามค่าความมีชีวิตของเชื้อยังสูงกว่าการเก็บรักษาเมล็ดภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับดัชนีการเกิดโรค คือ ในช่วง 0-3 เดือน พบว่าดัชนีการเกิดโรคต่ำคงที่ และเพิ่มมากขึ้นในช่วง 4-6 เดือน ส่วนการเก็บรักษาเมล็ดภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคต่ำตั้งแต่เดือนแรกในการเก็บรักษา ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปรารถนา (2557) ที่ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จเชื้อ *S. philanthi* หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน ผลพบว่าการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีจำนวนประชากรของเชื้อที่มีชีวิตรอดสูงสุดและค่อนข้างคงที่ในช่วง 1-3 เดือน ในขณะที่การเก็บไว้ในอุณหภูมิ 28 และ 40 องศาเซลเซียส มีจำนวนประชากรของเชื้อที่มีชีวิตรอดลดลงตั้งแต่เดือนแรกในการเก็บรักษา และ Ponsuriya and Sunpapao (2014) ได้ศึกษาการสูตรสำเร็จของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก โดยทำการเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีผลการรอดชีวิตของเชื้อสูง เนื่องจากการเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำและไม่มีความชื้นส่งผลให้ลดการเกิดกิจกรรมของเมตาบอไลต์ (metabolite) ของเชื้อทำให้เชื้อลดปริมาณการใช้อาหารและพลังงานลง จึงส่งผลทำให้เชื้อที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่ำมีชีวิตรอดมากและยาวนานมากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยในครั้งนี้สรุปได้ว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท CU-02 ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับสารเคลือบ CMC มีผลต่อการยับยั้งการเกิดโรคเมล็ดเน่าและโรคเน่าคอดินที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนเมล็ดยังคงมีความงอกสูงและต้นกล้าการเจริญที่ดี การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. นั้นควรเก็บที่สภาพอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาไม่เกิน 3 เดือน ซึ่งวิธีการดังกล่าวช่วยรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้ยังคงสูงและยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้ในระดับที่ดี

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2561. รายงานสถานการณ์การเพาะปลูกผักกาดขาวปลี. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://production.doae.go.th. 12 กันยายน 2564.

กรมส่งเสริมการเกษตร. ม.ป.ป. การเพาะปลูกผักกาดขาวปลี. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/herb_gar/pak_kad2.pdf. 12 กันยายน 2564.

กัลย์สุดา ดวงศรีแก้ว, สุภาพร แสงกระจ่าง และ เกวลิน มาพุ่ม. 2556. การใช้แบคทีเรียทนแล้งร่วมกับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อการกระตุ้นการทนแล้งของข้าว กข 47. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเทพสตรี**, 31 (2) 11-22.

กิตติวรรณ กล้ารอด และบุญมี ศิริ. 2557. อิทธิพลของการเคลือบเมล็ดด้วยฮอร์โมนพืชต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ และการเจริญเติบโตของต้นกล้าของมะเขือเทศ. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 34(3), 143-156.

กุศล ถมมา และพิศาล ศิริธร. 2555. ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B006 ในกาเคลือบเมล็ดเพื่อควบคุม เชื้อ *Botryosphaeria rhodina* สาเหตุโรคยางไหลของแตง. **วารสารแก่นเกษตร**, 40(1), 61-68.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การใช้ *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวโพดโดยชีววิธี. **วารสารโรคพืช**, 9(1), 28-33.

จักรพงษ์ กางโสภา และบุญมี ศิริ. 2558. ศักยภาพของการใช้ carboxymethyl cellulose และ hydroxypropyl methylcellulose เป็นวัสดุประสานสำหรับการพอกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม. **วารสารแก่นเกษตร**, 43(1), 268-273.

จักรพงษ์ กางโสภา และบุญมี ศิริ. 2561. ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม. **วารสารเกษตร**, 34(3), 385-397.

จักรพงษ์ กางโสภา, พสธร สมโภชน์, สมใจ ยศศรี, และ เพชรรัตน์ จี้เพชร. 2564. การเปลี่ยนแปลงความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองหลังการเคลือบเมล็ดด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* และ *Beauveria bassiana*. **วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา**, 6(1), 62-70.

จักรพงษ์ กางโสภา, มนวิภา ศิริเวช และ บุญมี ศิริ. 2559. พอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม. **วารสารแก่นเกษตร,** 44(1), 362-367.

จักรพงษ์ กางโสภา. 2562. การเคลือบเมล็ดพันธุ์. **วารสารผลิตกรรมการเกษตร**, 1(2), 63-76

จักรพงษ์ กางโสภา. 2563. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับธาตุอาหารพืชต่อความงอกของเมล็ดและความแข็งแรงของต้นกล้า. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 38(3), 417-425.

จันทร์ ประเสริฐ. 2553. **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ. 167.

จิตติมา โสตถิวิไลพงศ์, วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และ ดุสิต อธินุวัฒน์. 2557. สารสกัดหยาบพืชควบคุมโรคเน่าเละของผักกาดขาวปลี. **Thai Journal of Science and Technology**, 4(3), 244-254.

ฉัตรสุดา เผือกใจแผ้ว. 2551. **ประสิทธิภาพของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกลุ่มผักกาด**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไฉน ยอดเพชร. 2542. **พืชผักในตระกูลครูซิเฟอร์**. สำนักพิมพ์ รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ชานนท์ แสงจันทร์. 2557. **การควบคุมโรคเน่าเละที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ในผักกาดเขียวปลีโดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น**. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ชัยพร ขัดสงคราม และ เกวลิน คุณศักดากุล. 2556. ประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์ลำไยในการควบคุมโรคผลเน่าของลำไย. **วารสารเกษตร,** 29(3), 239-248.

ณรงค์ สาริสุต. 2534. **การเคลือบยาเม็ด**. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. หน้า 191 - 220.

ดวง สัมฤทธิ์, อนันต์ มิ่งขวัญ, อาริยา จันทร์เพ็ญกุล และ เลิศ ภูมิ. 2561. **การใช้อัตราส่วนเหมาะสมของปุ๋ยหมักชีวภาพจากใบยูคาลิปตัสที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาวโตเกียว**.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

ธิดารัตน์ แก้วคำ, ทองลา ภูคำวงศ์ และ ดวงใจ น้อยวัน. 2564. ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อคุณภาพ ของเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์ กข 69. **วารสารแก่นเกษตร**,1 936-941.

บุญมี ศิริ, ผดุงขวัญ จิตโรภาส, และ สุวารี ก่อเกษตรวงศ์. 2553. ผลของสารเคลือบที่มีต่อคุณลักษณะของการเคลือบและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 41. (1) 500-503.

บุญมี ศิริ. 2558. **การยกระดับและการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์**. ขอนแก่น.

ประไพพิศ อินเสน. 2560. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟต์. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย**. 11(2), 26-39.

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และชนิดาภา วะพิฒ. 2555. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**, 14 (1), 10-22.

ปรารถนา อัตตะมณี. 2557. **ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces philanthi* ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราของใบถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) โดยชีววิธี**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปวีณา สังข์แก้ว. 2555. **สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* griseus subsp. *formicus* สำหรับการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา**. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พจนา สีขาว. 2559. การเคลือบเมล็ดเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 34(3), 157-163.

พรปวีณ์ ธิวัฒน์รานิกุล, ภานุวัฒน์ มูลจันทะ, วรรณวิไล อินทนู และ จินตนา อันอาตม์งาม. 2562. การจำแนกชนิดและทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคหัวและลำต้นเน่ามันสำปะหลัง. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 37(2), 239-249.

ร่มสุรีย์ มนตรีภักดี และสรัญยา ณ ลำปาง. 2559. ประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum.* **Thai Agricultural Research Journal**, 34(2), 184-195.

รสพร เจียมจริยธรรม. 2558. **คหกรรมศาสตร์**. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และจันทร์จรัส วัฒนะโชติ. 2556. การพัฒนาการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากแอคติโน มัยซีทและการผลิตเซลล์ปริมาณมาก. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**, 2(1), 61-66.

ศรีสกุล ชนะพันธ์. 2553. **การแยกและคัดกรองเชื้อเอ็นโดไฟติกแอคติโนมัยซีสที่สามารถสร้างสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและการประยุกต์ใช้**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากรนครปฐม

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. **โรคของผักและการป้องกันกำจัด**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิรินภา ไชยพล. 2555. **การพัฒนาต้นตอส้มต้านทานโรคแคงเกอร์โดยใช้เชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริรัตน์ จงแสง. 2550. **การตรวจสอบดีเอ็นเอเมทิลเลชันในการออกดอกของผักกาดขาวปลี (*Brassica campestris* subsp. *pekinensis*) ที่ชักนำโดยปัจจัยต่างๆ ด้วยเทคนิคเอช**

เอที-อาร์เอพีดี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริมาศ ชัยชม และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2557. การใช้เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ชักนำให้เกิดความต้านทานโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **วารสารเกษตร**, 30(2), 141-150.

สมชาย ชคตระการ และอรรถกร พรมวี. 2553. การจำแนกชนิดและทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคหัวและลำต้นเน่ามันสำปะหลัง. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 18(1), 1-13.

สมศิริ แสงโชติ. 2529. **โรคพืชเบื้องต้น**.ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2563. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุม. 2563.

สุจรรยา ฉายแสง. 2556. **การแยกเชื้อเอนโดไฟติคแอคติโนมัยซีสจากข่าและกระชายมีคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์**. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สุธาสินี อังสูงเนิน. 2558. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้สารเคมีการจำกัดศัตรูพืช. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย**, 9(1), 50-63.

ไสว บัวแก้ว. 2552. **ประเมินการใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. สำหรับควบคุมโรคราเมล็ดผักกาดและโรคเหี่ยวเขียวของพริกขี้หนูโดยชีววิธี**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อนุสรา ตะเคียนเกลี้ยง, วรรณวิไล อินทนู และ จิระเดช แจ่มสว่าง. 2560. ประสิทธิภาพของสายพันธุ์กลายที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ซึ่งแยกจากดินรอบรากในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของต้นกล้าแตงกวา สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum.* **วารสารวิทยาศาสตร์เกษต**ร, 48(3), 442-452.

อรพันธ์ ชัยมงคล. 2554. **ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์โดยใช้ยูเรียและพอลิเอธิลีนไกลคอลต่อคุณภาพต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Agrios, G. N. 2005. Plan**t diseases caused by fungi**. Plant Pathology, 4.

Al-Sheikh, H. 2010. Two pathogenic species of *Pythium*: *P. aphanidermatum* and *P. diclinum* from a wheat field. **Saudi Journal of Biological Sciences,** 17(4), 347-352.

Anderson, A. S. and Wellington, E. M. 2001. The taxonomy of *Streptomyces* and

related genera. I**nternational journal of systematic and evolutionary microbiology,** 51(3), 797-814.

Araujo, R. and Ramos, M. A. 2000. Status and conservation of the giant European freshwater pearl mussel (*Margaritifera auricularia*) (Spengler, 1793) (Bivalvia) Unionoidea). **Biological Conservation**. 96(2), 233-239.

Australian Centre for International Agricultural. 2010. Life cycle *pythium* sp. แหล่งที่มา https://apps.lucidcentral.org/ppp_v9/text/web_full/entities/ginger_soft_rot_162.htm. 12 กันยายน 2564.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P. and van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 80(1), 1-43.

Baukaew, S., Petlamul, W., Suyotha, W. and Prasertsan, P. 2017. Simultaneous fermentative chitinase and beta-1, 3 glucanase production from Streptomyces philanthi RM-1-1-38 and their antifungal activity against rice sheath blight disease. **Bionanotechnology**, 97(4).

Becher, P. G., Verschut, V., Bibb, M. J., Bush, M. J., Molnár, B. P., Barane, E. and Flardh, K. 2020. Developmentally regulated volatiles geosmin and methylisoborneol attract a soil arthropod to Streptomyces bacteria promoting spore dispersal. **Nature microbiology**, 5(6), 821-829.

Callaghan, M., Swaminathan, J. Lottmann., D. Wright. and T.A. Jackson. 2006. Seed coating with biocontrol strain Pseudomonas fluorescens F113. **NZ Plant Prot**. 59: 80-85

Cheah, L. H., Veerakone, S. and Kent, G. 2016. Biological control of clubroot on cauliflower with Trichoderma and *Streptomyces* spp. **New Zealand Plant Protection**. 53, 18-21.

Choudhary, A. K., Singh, N. and Singh, D. 2015. Exploitation of indigenous strains of *Trichoderma* and *Pseudomonas fluorescen*s for the control of damping off in chilli. **Plant Disease Research**. 30(1), 6-10.

Dochhil, H.; Dkhar, M.S. and Barman, D. 2013. Seed germination enhancing activity of endophytic *Streptomyces* isolated from indigenous ethno-medicinal plant Centella asiatica. **Biol Sci**, 4, 256–262.

EL-shaer, H., EL-Zaway, H. and Mohamed, A. A. 2019. 16S rRNA of *Streptomyces* isolates, mutagenic by EMS and antagonistic tested on *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* of cucumber plants. **Archives of Agriculture Sciences Journa**l, 32(1), 38-56.

Hassanisaadi, M., Shahidi Bonjar, G. H., Hosseinipour, A., Abdolshahi, R., Ait Barka, E. and Saadoun, I. 2021. Biological Control of *Pythium aphanidermatum*, the Causal Agent of Tomato Root Rot by Two Streptomyces Root Symbionts. **Agronomy**, 11(5), 846.-856.

Kabir, L., W. K. Sang., S.K. Yun. and S.L. Youn. 2012. Application of Rhizobacteria for Plant Growth Promotion Effect and Biocontrol of Anthracnose Caused by Colltotrichumacutatum on Pepper. **Mycobiology,** 40(1), 244-251.

Kangsopa, J. and Jeephet, P. 2021. Effect of osmopriming and coating seed with captan and metalaxyl on the germination and seedling growth of field corn. **Technology**, 17(3), 909-920.

Li, Q., Chen, X., Jiang, Y. and Jiang, C. 2016. Morphological identification of *actinobacteria.* **Actinobacteria-basics and biotechnological application**s, 59-86.

Li, X., Jing, T., Zhou, D., Zhang, M., Qi, D., Zang, X. and Xie, J. 2021. Biocontrol efficacy and possible mechanism of *Streptomyces* sp. H4 against postharvest anthracnose caused by Colletotrichum fragariae strawberry fruit. **Postharvest Biology andTechnology**, 175, 111401.

Pamuk, S.G. 2004. **Controlling water dynamic in Scots pine (Pinus sylvertris L.) seed before and during seedling emergence.** Doctoral Thesis. Department of Silviculture, Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala, SWEDEN.

Pornsuriya, C. and Sunpapao, A. 2014. Formulations of *Streptomyces philanthi* RL-1-178 biocontrol agent against *Sclerotium* root and stem rot of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). **Philipp Agric Scient**, 97(4), 273-279.

Schroeder, K. L., Martin, F. N., de Cock, A. W., Lévesque, C. A., Spies, C. F., Okubara, P. A. and Paulitz, T. C. 2013. Molecular detection and quantification of *Pythium* species: taxonomy, new tools, and challenges. **Plant disease**, 97(1), 4-20.

Shimizu, M., Nakagawa, Y., Yukio, S. A. T. O., Furumai, T., Igarashi, Y., Onaka, H. and

Kunoh, H. 2000. Studies on endophytic *actinomycetes Streptomyces* sp. isolated from rhododendron and its antifungal activity. **Journal of General Plant Pathology**. 66(4), 360-366.

Srividya S, Adarshana T, Deepika V, Kajingailu G. and Nilanjan D. 2012. *Streptomyces* sp. as effective biocontrol against chili soil borne fungal phytopathogens. **European J Exp. Biol**, 2(1), 163-173.

Suwitchayanon, P., Chaipon, S., Chaichom, S. and Kunasakdakul, K. 2018. Potentials of *Streptomyces rochei* ERY1 as an endophytic actinobacterium inhibiting damping-off pathogenic fungi and growth promoting of cabbage seedling. **Chiang Mai J. Sci,** 45(1), 692-700.

Tamreihaoa, K., Ningthoujama, D. S, Nimaichanda, S., Singha, E. S., Reenac, P. and Singhc, S. H. 2016. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application a for rice plant. **Microbiological Research**, 192, (2) 260-270.

Toumatia, O., Compant, S., Yekkour, A., Goudjal, Y., Sabaou, N., Mathieu, F. and Zitouni, A. 2016. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. **South African Journal of Botany**. 105 (5), 234-239

Uzuhashi, S., Kakishima, M. and Tojo, M. 2010 Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. Mycoscience, 51(5), 337-365.

Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G. and Zhao, J. 2013. Isolation and evaluation of rhizosphere *actinomycetes* with potential application for biocontrol of *Verticillium* wilt of cotton. **Crop Protection.** 43(1), 231-240.

ภาคผนวก

ภาคผนวก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200 กรัม
dextrose	20 กรัม
ผงวุ้น (agar)	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัสประมาณ 200 กรัม ต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตร ประมาณ 15 นาที จนกระทั่งมันฝรั่งสุก จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อแยกเอาเนื้อมันฝรั่งออก และเก็บส่วนน้ำเอาไว้ นำผงวุ้นและน้ำตาลมาละลายในน้ำที่เหลืออีก 500 มิลลิลิตร นำมาต้มจนวุ้นใส และผสมน้ำมันฝรั่งที่กรองไว้ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ ที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

2. inhibitory mold agar-2 (IMA-2)

glucose	0.5 กรัม
soluble starch	0.5 กรัม
yeast extract	1.0 กรัม
beef extract	1.0 กรัม
casein NZ-case (enzyme hydrolyzed casein)	2.0 กรัม
sodium chloride	2.0 กรัม
calcium carbonate	1.0 กรัม
ผงวุ้น (agar)	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนผสมกับผงวุ้นละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

3. international *streptomyces* project-2 (ISP)

yeast extract powder	4 กรัม
malt extract powder	10 กรัม
dextrose	4 กรัม
ผงวุ้น (agar)	20 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนผสมกับผงวุ้นละลายเข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาว นิละมัย แสนสุภา
เกิดเมื่อ	1 พฤษภาคม 2538
ประวัติการศึกษา	2557 ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนพบพระวิทยาคม อ.พบพระ จ.ตาก 2561 ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	ตีพิมพ์ผลงานวิจัย : ผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับ Streptomyces sp. CU-02 ต่อคุณภาพและการควบคุมโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY