การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่าและเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์

โดย

นายศตรรฆ ใจซื่อ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่าและเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์

โดย

นายศตรรฆ ใจซื่อ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

DEVELOPMENT OF BIO-PRODUCT FROM POLYSACCHARIDE OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* FOR ROOT AND TUBER ROT DISEASES CONTROL AND INCREASING ORGANIC CASSAVA YIELD

BY

MR. SATUCK CHAISUE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (ORGANIC FARMING MANAGEMENT)
DEPARTMENT OF ORGANIC FARMING MANAGEMENT
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2015

COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นายศตรรฆ ใจซื่อ

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่า และเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)

เมื่อวันที่ 21 ธันวาคม พ.ศ. 2558

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(อาจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุสิต อธินุวัฒน์)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(อาจารย์ ดร.อรประภา อนุกูลประเสริฐ)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(อาจารย์ ดร.ปาริยา ณ นคร)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัญ ผลประไพ)

คณบดี _____
(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่า และเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์
ชื่อผู้เขียน	นายศตรรฆ ใจซื่อ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการเกษตรอินทรีย์)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุสิต อธินุวัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.อรประภา อนุกูลประเสริฐ อาจารย์ ดร.ปาริยา ณ นคร
ปีการศึกษา	2558

บทคัดย่อ

Pseudomonas fluorescens ผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ 2.8 กรัม/ลิตร ใน nutrient glucose broth ที่เติมน้ำตาลกลูโคส 7.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารพอลิแซคคาไรด์นี้มีประสิทธิภาพยับยั้งเส้นใยและซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. เมื่อทำการทดสอบโดย agar diffusion และ poison medium ตามลำดับ ต่อมาสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm ได้ถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 และการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าเปรียบเทียบกับสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมกับมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล ผลการทดลองพบว่าท่อนมันสำปะหลังที่ผ่านการแช่ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ 500 ppm ส่งเสริมให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองมีค่าเฉลี่ยความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 15.2 เซนติเมตร 23.2 เซนติเมตร และ 51.5 ราก ตามลำดับ และในสภาพไร่ มีค่าเฉลี่ยความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 76 เซนติเมตร 41.9 เซนติเมตร และ 49.8 ราก ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี (p=0.05) ยิ่งไปกว่านั้นสารพอลิแซคคาไรด์ 500 ppm ส่งเสริมให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 6 เดือน ในสภาพไร่ มีน้ำหนักสดราก 2.3 กิโลกรัม เส้นรอบวงของราก 13.4 เซนติเมตร จำนวนราก 52.6 ราก และเปอร์เซ็นต์แป้ง 28.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี (p = 0.05) อีกทั้งสาร

พอลิแซคคาไรด์ 500 ppm ยังกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร indole-3-acetic acid (IAA) และ salicylic acid (SA) เท่ากับ 15.77 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม น้ำหนักสด และ 0.27 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด อย่างรวดเร็วภายในวันที่ 11 หลังปลูกมันสำปะหลัง และภายในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. เมื่อต้นมันสำปะหลังอายุ 30 วัน โดยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี (p= 0.05) ผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์จึงได้ถูกพัฒนาขึ้นและให้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจ โดยแสดงประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมันสำปะหลัง ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. และควบคุมโรครากหรือหัวเน่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมี (p=0.05) จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ร่วมในระบบการผลิตมันสำปะหลังในสภาพไร่ เพื่อลดหรืองดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่เกษตรกรนิยมใช้

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ปฏิปักษ์, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช, การควบคุมโดยชีววิธี

Thesis Title	DEVELOPMENT OF BIO-PRODUCT FROM POLYSACCHARIDE OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* FOR ROOT AND TUBER ROT DISEASES CONTROL AND INCREASING ORGANIC CASSAVA YIELD
Author	Mr. Satuck Chaisue
Degree	Master of Science (Organic Farming Management)
Department/Faculty/University	Department of Organic Farming Management Faculty of Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Dusit Athinuwat
Thesis Co-Advisor	Dr. Ornprapa Anugoolprasert Dr. Pariya Na Nakorn
Academic Years	2015

ABSTRACT

Pseudomonas fluorescens produced polysaccharides with 2.8 g/L dry weight in nutrient glucose broth with 0.75% of glucose. Polysaccharides was inhibited *Pythium* sp. growth and zoospore germination tested by agar diffusion and poison medium, respectively. The 100, 200, 500, and 1,000 ppm of polysaccharides were evaluated for enhancing growth of cassava plant cv. Rayong 9 and controlling root or tuber rot compared to fungicide, 160 g of Captan combined with 20 ml of Malathion in 20 L of water and 2.5 mM of synthetic salicylic acid (SA). The cassava soaked with a 500 ppm of polysaccharides significantly increased stem height, root length and number of root with 15.2 cm, 23.2 cm, and 51.5 roots and 76 cm, 41.9 cm, and 49.8 roots at 3 months after planting under greenhouse and field conditions, respectively compared with chemical treatments (p=0.05). Subsequently, the 500 ppm of polysaccharides significantly increased root weight, root circumference, number of root, and percentage of starch with 2.3 kg, 13.4 cm, 52.6 roots, and 28.4%,

respectively at 6 months after planting under field conditions compared with chemical treatments. Nonetheless, the 500 ppm of polysaccharides triggered significantly increased expression of plant growth hormone, indole-3-acetic acid (IAA) promptly within 11 days after cultivated with 15.77 µg/mg fresh weight compared to chemical treatments (p=0.05). Moreover, the polysaccharides triggered significantly increased expression of salicylic acid immediately after challenge inoculation with *Pythium* sp. at 30 days old plant reaching peak levels at 3 days after challenge inoculation with 0.27 mg/g fresh weight compared to chemical treatments (p=0.05). The efficiency of polysaccharides showed not significantly decreased in root or tuber rot incidence under greenhouse and field experiments when compared with chemical treatments (p=0.05). The bioproduct made from polysaccharides was developed and showed high efficiency to enhances cassava plant growth, *Pythium* sp. growth inhibition, and control root or tuber rot of cassava plant that was not different significant with chemical treatments. Therefore, its possible that polysaccharides can be used in the cassava plant production system under field conditions to reduce or replace the chemical fungicides applied by farmer.

Keywords: antagonistic microorganism, plant growth promoting bacteria, biocontrol

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุสิต อธินุวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำทางด้านวิชาการ แนวคิดในการทำงานวิจัย และขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนัญ ผลประไพ อาจารย์ ดร.อรประภา อนุกูลประเสริฐ และอาจารย์ ดร.ปาริยา ณ นคร กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้ง อาจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ชาวเกษตรอินทรีย์ ทุกคนที่เป็นกำลังใจในการเรียนและการทำวิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบริษัทบ้านเกษตรรุ่งเรือง จำกัด ที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายนี้ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัวตลอดจนครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้มาจวบจนปัจจุบัน

นายศตรรฆ ใจซื่อ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญตาราง	(9)
สารบัญภาพ	(10)
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 สมมติฐาน	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 มันสำปะหลัง	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของมันสำปะหลัง	4
2.1.2 การปลูกและดูแลรักษา	6
2.2 โรคของมันสำปะหลัง	7
2.2.1 โรคใบไหม้	7
2.2.2 โรคใบจุดสีน้ำตาล	7

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.3 โรคใบจุดไหม้	8
2.2.4 โรคใบจุดขาว	8
2.2.5 โรคแอนแทรคโนส	8
2.2.6 โรครากหรือหัวเน่า	9
2.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	10
2.4 เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์	11
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	14
3.1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง	14
3.2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s	15
3.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้ง *Pythium* sp.	15
3.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้ง *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion	16
3.3.2 ทดสอบการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp.	17
3.4 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	17
3.4.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต	17
3.4.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp.	18
3.4.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Salicylic acid (SA)	19
3.5 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในสภาพไร่	19
3.6 พัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	22
4.1 ผลการแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง	22
4.2 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s	23
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการยับยั้ง *Pythium* sp.	24
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	32
4.4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	32
4.4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่ามันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	39
4.5 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในสภาพไร่	42
4.6 พัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์	48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	55
รายการอ้างอิง	56
ประวัติผู้เขียน	67

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	36
4.2 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	37
4.3 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	38
4.4 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพไร่	45
4.5 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพไร่	46
4.6 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 6 เดือน ในสภาพไร่	47
4.7 ประสิทธิภาพของการใช้ผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่	51
4.8 ประสิทธิภาพของการใช้ผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่	52

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 เส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp. (ก และ ข) และอาการยอดเน่าแห้ง (ค) บนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 หลังปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. ไอโซเลท 3 (ง) เป็นเวลา 7 วัน	23
4.2 ปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s จากการเลี้ยงภายใต้สภาพที่มีปริมาณกลูโคสแตกต่างกัน	24
4.3 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (T5) แคปแทน (T6) salicylic acid (T7) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9)	27
4.4 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (ก) 200 (ข) 500 (ค) และ 1,000 (ง) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (จ) แคปแทน (ฉ) salicylic acid (ช) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (ซ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ฌ)	28
4.5 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (ก) 200 (ข) 500 (ค) และ 1,000 (ง) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (จ) แคปแทน (ฉ) salicylic acid (ช) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (ซ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ฌ) โดยสารพอลิแซคคาไรด์ทุกระดับความเข้มข้น (ก – ง) ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ (abnormal growth) หดสั้น บวมพอง (swollen) เช่นเดียวกับการใช้เชื้อสด SP007s (จ) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (ฉ) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid (ช) ขณะที่การใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp.	29

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.6 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ในการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp. เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (T5) แคปแทน (T6) salicylic acid (T7) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9) 31

4.7 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสม indole-3-acetic acid เปรียบเทียบกับ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) 39

4.8 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสม salicylic acid เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) โดยมีการปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลังเมื่ออายุ 30 วัน 41

4.9 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 7 วัน หลังปลูกเชื้อโรค เปรียบเทียบกับการใช้ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออน อัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) 42

4.10 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าเมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพไร่ เปรียบเทียบกับการใช้ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) 48

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.11 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s อายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T5) สารจับใบ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) 53

4.12 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s อายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T5) สารจับใบ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) 54

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ	คำเต็ม/คำจำกัดความ
Cfu/ml	Colony forming units per milliliter
CMA	Corn meal agar
CRD	Completely randomized design
DMRT	Duncan's new multiple range tests
EPS	Exopolysaccharide
IAA	Indole-3-acetic acid
NGB	Nutrient glucose broth
NGA	Nutrient glucose agar
O.D.	Optical density
PDA	Potato dextrose agar
RCBD	Randomized complete block design
SA	Salicylic acid
SP007s	*Pseudomonas fluorescens* SP007s

บทที่1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มันสำปะหลัง เป็นพืชหัวที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลก รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง สำหรับในประเทศไทยมันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญรองจากข้าว ยางพารา และอ้อย มูลค่าการส่งออกมันสำปะหลังปี พ.ศ. 2552 มีมากกว่า 51,641 ล้านบาท หรือคิดเป็นร้อยละ 5.2 ของมูลค่าการส่งออกสินค้าในภาคการเกษตร (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) โดยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด รองลงมาคือ ภาคกลางและภาคเหนือ แหล่งผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญ 5 อันดับแรก ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กำแพงเพชร สระแก้ว ชัยภูมิ และกาญจนบุรี (กัญญารัตน์, 2553) ระบบการปลูกมันสำปะหลังและมันสำปะหลังอินทรีย์ในปัจจุบันยังคงพบกับปัญหาโรคระบาด โดยเฉพาะโรครากและหัวเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. ทำให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Fokunang *et al.*, 2001) และเกษตรกรยังไม่รู้จักวิธีการควบคุมโรคและไม่ให้ความสำคัญอย่างจริงจัง หากปัญหานี้ไม่ได้รับการดูแลและแก้ไขอย่างจริงจังอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตมันสำปะหลัง ตลอดจนปัญหาเกี่ยวกับพื้นที่การผลิตในอนาคต วิธีการหนึ่งในหลักการเกษตรยั่งยืนที่ใช้ปัจจัยการผลิตน้อย (low-input sustainable agriculture, LISA) คือ การใช้ชีววิธี ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* CaSUT007 *Pseudomonas fluorescens* SP007s และ *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพผลิตสารทุติยภูมิ สารพอลิแซคคาไรด์ และกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิต้านทาน ได้แก่ salicylic acid, jasmonic acid, β-1,3-glucanase, peroxidase, phenolics, guaicol peroxidase และ glucosinolate ที่ใช้ยับยั้งการเข้าทำลายของโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคเน่าเละกะหล่ำดอก (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) โรคขอบใบทองของพืชผักตระกูลกะหล่ำ (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) (Prathuangwong *et al*., 2008; 2009a; 2009b) โรคเน่าคอดิน (*Pythium* sp. และ *Rhizoctonia solani*) และโรคที่ระบบรากอื่น ๆ (*Fusarium oxysporum, F. solani* และ *Sclerotium rolfsii*) ของถั่วเหลือง (ณัฐธิญา และคณะ, 2550; 2551; Kasem *et al*., 2009; Prathuangwong and Athinuwat, 2009) โรคเน่าคอดินของอะคาเซียและสัก (*Phytophthora aphanidermatum*) รวมทั้งโรคใบไหม้ (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*) และโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*) ของมันสำปะหลัง เป็นต้น (Buensanteai *et al*., 2008; 2012; Buensanteai and

Athinuwat, 2012) แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดการใช้เชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง โดยหากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s สามารถผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ยับยั้งเชื้อ *Pythium* sp. เช่นเดียวกับผลการศึกษาวิจัยในโรคอื่น ๆ ที่ผ่านมา ก็จะทำให้ลดปัญหาการระบาดของโรครากและหัวเน่าที่จะทำอันตรายต่อมันสำปะหลังทั้งที่ปลูกด้วยระบบเกษตรอินทรีย์หรือระบบดั้งเดิม ตลอดจนช่วยเตรียมความพร้อมของต้นมันสำปะหลังให้มีความสมบูรณ์และผลผลิตต่อไร่สูงต่อไป ความรู้ที่ได้จากประเด็นนี้จะสามารถกำหนดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารพอลิแซคคาไรด์ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพไร่ รวมทั้งการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อปฏิปักษ์ในการชักนำให้ต้นมันสำปะหลังเจริญเติบโตเร็วอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมและใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังทั้งระบบเกษตรอินทรีย์และระบบอื่น ๆ เชิงการค้าได้ดี ซึ่งในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ชีวภาพได้รับความสนใจจากเกษตรกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดโรคและฮอร์โมนพืชสังเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพพืช คน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนลดต้นทุนการผลิตมันสำปะหลังได้อย่างยั่งยืน

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าในระบบการปลูกมันสำปะหลังอินทรีย์

1.2.2 พัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์พร้อมใช้ชนิดน้ำจากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s เพื่อใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง รวมทั้งเป็นต้นแบบของภาคอุตสาหกรรม

1.3 สมมติฐาน

สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลังในระบบการปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาวิจัยวิทยานิพนธ์นี้ เริ่มตั้งแต่การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ตลอดจนศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC) ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ เรือนปลูกพืชทดลอง และในสภาพไร่ด้วยระบบการปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ นอกจากนี้จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s เป็นสารออกฤทธิ์ (active ingredient, AI) สำหรับใช้ยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังในสภาพไร่ของเกษตรกร ง่ายต่อการนำไปใช้ และมีอายุการเก็บรักษายาวนาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า และเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์

1.5.2 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า และเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์ ซึ่งใช้เป็นต้นแบบของภาคอุตสาหกรรม

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มันสำปะหลัง

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (*Manihot Esculenta* Crantz) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา ต่อมาได้มีการขยายการเพาะปลูกไปสู่แหล่งอื่น ๆ จนทำให้มันสำปะหลังกลายเป็นพืชอาหารที่ให้คาร์โบไฮเดรตสูง สำหรับประเทศไทย คาดว่าได้มีการนำมันสำปะหลังจากประเทศมาเลเซียเข้ามาปลูกเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2329 ในระหว่างแถวของต้นยางพารา ต่อมาเมื่อมีการขยายการเพาะปลูกยางพาราในเขตภาคใต้มากขึ้น การปลูกมันสำปะหลังในภาคใต้จึงค่อย ๆ ลดลง และแพร่กระจายการเพาะปลูกไปยังเขตภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากขึ้น จนกระทั่งปัจจุบันพบว่าไม่มีการเพาะปลูกมันสำปะหลังในภาคใต้แล้ว (กลุ่มทำงานศึกษาและวิเคราะห์สินค้าเกษตรกรประเภทมันสำปะหลัง, 2554)

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการปลูก คือ เขตร้อนช่วงบริเวณเส้นรุ้งที่ 30 องศาเหนือ ถึง 30 องศาใต้ และที่ความสูงระดับน้ำ ทะเลจนถึง 2,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล สามารถเจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนปนทรายเพราะจะลงหัวง่าย สภาพอากาศที่เหมาะสมคือที่ระดับอุณหภูมิ 10-35 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยเฉลี่ยต้องไม่ต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ พันธุ์ที่ใช้ประดับ พันธุ์ที่ใช้บริโภคเป็นอาหารโดยตรง (พันธุ์หวาน) และพันธุ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปต่าง ๆ

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยลำต้น ปลูกโดยคัดเลือกต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์สดใหม่อายุ 8-12 เดือน ปราศจากโรคและศัตรูพืช นำมาตัดเป็นท่อนพันธุ์ ยาวประมาณ 20 เซนติเมตรมีจำนวนตาไม่น้อยกว่า 5 ตา แล้วนำไปปักในแปลงปลูกให้มีระยะปลูกที่เหมาะสม (กรมวิชาการเกษตร, 2545) พันธุ์มันสำปะหลังที่ผลิตเพื่อจำหน่ายแก่โรงงานอุตสาหกรรมที่ได้มีการส่งเสริมและพัฒนาขึ้นในประเทศไทย (กรมวิชาการเกษตร, 2552; วรรณภาและคณะ, 2551) มี 13 พันธุ์ดังนี้

1) พันธุ์ระยอง 1 เป็นพันธุ์พื้นเมือง ที่ให้ผลผลิตสูงจากการทดลองเปรียบเทียบผลผลิตของพันธุ์มันสำปะหลังที่รวบรวมได้จากท้องที่ต่างๆ ทั่วประเทศและพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2500 และในปี พ.ศ. 2518 กลุ่มนักวิชาการด้านมันสำปะหลังได้คัดเลือกและตั้ง ชื่อพันธุ์มันสำปะหลังนี้ว่า “พันธุ์ระยอง 1” และได้ผลิตต้นพันธุ์เพื่อแจกจ่ายให้เกษตรกร ปัจจุบันเกษตรกรไม่นิยมปลูก เนื่องจากมีพันธุ์ใหม่ๆ ที่ดีกว่า

2) พันธุ์ระยอง 3 ได้จากการนำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์ Mmex 55 กับ Mven 307 มาคัดเลือกในปี พ.ศ. 2518

3) พันธุ์ระยอง 60 เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ Mcol 1684 กับพันธุ์ระยอง 1 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ในปี พ.ศ.2524 ตั้ง ชื่อพันธุ์ว่า “ระยอง 60” เพื่อเฉลิมพระเกียรติเนื่องในโอกาสมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 60 พรรษาของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ

4) พันธุ์ศรีราชา 1 เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ MKU 2-162 กับพันธุ์ระยอง 1 ที่สถานีวิจัยศรีราชา ในปี พ.ศ. 2526

5) พันธุ์ระยอง 90 เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ CMC 76 กับพันธุ์ V 43 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ในปี พ.ศ. 2521 ตั้ง ชื่อพันธุ์ว่า “ระยอง 90” เพื่อร่วมเทิดพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนีในวโรกาสที่ทรงเจริญพระชนมายุครบ 90 พรรษา

6) พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 พัฒนาโดยความร่วมมือระหว่าง 3 หน่วยงาน คือ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรมวิชาการเกษตร และศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (Centro International de Agriculture Tropical, CIAT) ที่สถานีวิจัยศรีราชา ในปี พ.ศ. 2527 เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 1 กับพันธุ์ระยอง 90 ตั้ง ชื่อพันธุ์ว่า “เกษตรศาสตร์ 50” เพื่อฉลองวาระครบรอบ 50 ปีของการก่อตั้งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในปี พ.ศ. 2536

7) พันธุ์ระยอง 5 เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ 27-77-10 กับพันธุ์ระยอง 3 เมื่อปี พ.ศ. 2525 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

8) พันธุ์ระยอง 72 เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 1 กับพันธุ์ระยอง 5 ในปี พ.ศ. 2533 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปรับตัวได้ดี

9) พันธุ์ระยอง 7 ได้จากการผสมพันธุ์ของสายพันธุ์แม่ CMR31-71-25 กับสายพันธุ์พ่อ OMR29-20-118 ในปี พ.ศ. 2535 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

10) พันธุ์ระยอง 9 เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ของสายพันธุ์แม่ CMR31-19-23 กับสายพันธุ์พ่อ OMR29-20-118 ในปี พ.ศ. 2535 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ปลูกได้ดีในทุกแหล่งปลูกมันสำปะหลัง ศักยภาพในการให้ผลผลิตขึ้น อยู่กับสภาพพื้น ที่และการดูแลรักษา

11) พันธุ์เขียวปลดหนี้ คัดเลือกจากการผสมข้ามระหว่างระยอง 5 เป็นแม่ และ CMR29-20-118 เป็นพ่อ ในปี พ.ศ. 2535 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

12) พันธุ์ห้วยบง 60 พัฒนาโดยความร่วมมือระหว่าง มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 กับพันธุ์ระยอง 5 ในปี พ.ศ. 2534 และได้ทำการคัดเลือก

ทดสอบ และเปรียบเทียบพันธุ์ จนถึงปี พ.ศ. 2544 ตั้ง ชื่อพันธุ์ว่า “ห้วยบง 60” เพื่อฉลองวาระครบรอบ 60 ปีของการก่อตั้ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในปี พ.ศ. 2546

13) พันธุ์ห้วยบง 80 พัฒนาโดยความร่วมมือระหว่าง มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์ระยอง 5 และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ณ สถานีวิจัยศรีราชา จ. ชลบุรี ในปี พ.ศ. 2535 ตั้งชื่อพันธุ์ว่า “ห้วยบง 80” เพื่อเฉลิมพระเกียรติเนื่องในโอกาสมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 80 พรรษาของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ

2.1.2 การปลูกและดูแลรักษา

2.1.2.1 การเตรียมดิน

ใส่ปุ๋ยคอก หรือ ปุ๋ยหมักเปลือกมันชนิดเก่าค้างปี (จากโรงแป้งทั่วไป) ที่หาได้ในท้องถิ่น หรือ ปลูกพืชตระกูลถั่วต่าง ๆ หมุนเวียนบำรุงดิน จากนั้นไถครั้งแรกโดยไถกลบวัชพืชก่อนปลูกด้วยผาน 3 (อย่าเผาทำลายวัชพืช) ให้ลึกประมาณ 20-30 เซนติเมตร แล้วทิ้งระยะไว้ประมาณ 20-30 วัน เพื่อหมักวัชพืชเป็นปุ๋ยในดินต่อไป ไถพรวนด้วยผาน 7 อีก 1-2 ครั้ง ตามความเหมาะสม และรีบปลูกโดยเร็ว ในขณะที่ดินยังมีความชื้นอยู่

2.1.2.2 การเตรียมท่อนพันธุ์

ใช้ท่อนพันธุ์มันที่สด อายุ 10-12 เดือน ตัดทิ้งไว้ไม่เกิน 15 วัน โดยตัดให้มีความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร มีตาไม่น้อยกว่า 5 ตา

2.1.2.3 การปลูก

ปลูกเป็นแถวแนวตรง เพื่อสะดวกในการบำรุงรักษาและกำจัดวัชพืช โดยใช้ระยะระหว่างแถว 1.20 เมตร ระยะระหว่างต้น 80 เซนติเมตร และปักท่อนพันธุ์ให้ตั้งตรงลึกในดินประมาณ 10 เซนติเมตร

2.1.2.4 การกำจัดวัชพืชและการใส่ปุ๋ย

กำจัดวัชพืช ครั้งที่ 1 ประมาณ 30-45 วัน หลังการปลูก โดยใช้รถไถเล็กเดินตาม หรือ จานพรวนกำจัดวัชพืช ติดท้ายรถแทรกเตอร์ พร้อมทั้งใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วน 50-75 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย และในอัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับดินทราย ควรใส่ปุ๋ยระยะห่างจากต้นมัน 20 เซนติเมตร จากนั้นใช้จอบกำจัดวัชพืชส่วนที่เหลือพร้อมกับกลบปุ๋ยไปด้วย หรือใส่ปุ๋ยโดยการขุดหลุม ห่างจากโคนต้น 20 เซนติเมตร แล้วกลบดินตามก็ได้ ข้อสำคัญควรใส่ปุ๋ยขณะที่ดินมีความชื้นอยู่ กำจัดวัชพืช ครั้งที่ 2 ประมาณ 60-70 วัน หลังการปลูก โดยปฏิบัติเช่นเดียวกันกับครั้งแรก กำจัดวัชพืช ครั้งที่ 3 ตามความจำเป็น โดยใช้จอบถาก

2.1.2.5 การเก็บเกี่ยว

ทำการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังในช่วงอายุที่เหมาะสม คือ ประมาณ 10-12 เดือน (ส่วนใหญ่ไม่เกิน 18 เดือน อายุการเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับพันธุ์มันสำปะหลัง) พร้อมทั้ง วางแผนการเตรียมท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง เพื่อการปลูกในคราวต่อไปส่วนของต้นมันสำปะหลังที่ไม่ใช้ เช่น ใบ กิ่ง ก้าน หรือ ลำต้น ควรสับทิ้งไว้ในแปลง เพื่อให้เป็นปุ๋ยพืชสดในดินต่อไป

2.2 โรคของมันสำปะหลัง

2.2.1 โรคใบไหม้

โรคใบไหม้ของมันสำปะหลังมีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* ส่งผลให้ผลผลิตเสียหาย 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ท่อนพันธุ์จากต้นที่เป็นโรคมาปลูก และถ้าสภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค (อุณหภูมิและความชื้นค่อนข้างสูง) อาจทำเกิดความเสียหายถึง 80 เปอร์เซ็นต์ การแพร่ระบาดที่สำคัญคือ เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจะติดไปกับท่อนพันธุ์ โดยฝนหรือดิน รวมทั้งเครื่องมือที่ใช้ในการเกษตร ต้นมันสำปะหลังที่เป็นโรคจะเริ่มแรกแสดงอาการใบจุดเหลี่ยม ฉ่ำน้ำ ใบไหม้ ใบเหี่ยว ยางไหล จนถึงอาการยอดเหี่ยว และแห้งตายลงมา นอกจากนี้ยังทำให้ระบบท่อน้ำอาหารของลำต้นและรากเน่า

2.2.2 โรคใบจุดสีน้ำตาล

โรคใบจุดสีน้ำตาลเกิดจากเชื้อรา *Cercosporidium henningsii* เป็นโรคที่สำคัญที่สุดของมันสำปะหลัง พบครั้งแรกในประเทศแทนซาเนีย ในปี พ.ศ. 2438 หลังจากนั้นในปี พ.ศ. 2468 จึงมีรายงานความเสียหายในแหล่งปลูกมันสำปะหลังของโลก สำหรับในประเทศไทย พบว่า มันสำปะหลังเกือบทุกพันธุ์เป็นโรคใบจุดสีน้ำตาล ความรุนแรงของโรคขึ้นกับพันธุ์ อายุพืช และสภาพแวดล้อม มันสำปะหลังที่มีอายุ 3-5 เดือน จะมีความต้านทานต่อโรคนี้มากกว่ามันสำปะหลังที่มีอายุ 14-16 เดือน และสามารถพบโรคในแหล่งที่มีความชื้นต่ำและแห้งแล้งได้ โรคใบจุดสีน้ำตาลนี้จะไม่ทำให้ผลผลิตของมันสำปะหลังลดลงมากนัก ผลผลิตจะแตกต่างเฉพาะในพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค สำหรับในพันธุ์ระยอง 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เป็นโรคในระดับปานกลาง พบว่า ทำให้ผลผลิตลดลงตั้งแต่ 14-20 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากทำให้ใบร่วงเร็วกว่าปกติ พุ่มใบ (canopy) เปิดเป็นโอกาสให้วัชพืช เจริญได้ดี อันเป็นผลทางอ้อมทำให้ผลผลิตของมันสำปะหลังลดลง โดยทั่วไปต้นที่เป็นโรคมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ จะพบอาการของโรคบนใบล่าง ๆ มากกว่าใบบนซึ่งมีอายุน้อยกว่า มีรายงานว่าใบมันสำปะหลังอายุ 5-15 วัน จะทนทานต่อการเกิดโรค และจะอ่อนแอพบเป็นโรคได้เมื่ออายุ 25 วันขึ้นไป โดยเกิด

อาการใบจุดค่อนข้างเหลี่ยมตามเส้นใบ มีสีน้ำตาล ขนาด 3-15 มิลลิเมตร มีขอบชัดเจน จุดแผลด้านหลังใบมีสีเทา เนื่องจากมีเส้นใยและส่วนขยายพันธุ์ (fruiting bodies) ของเชื้อสาเหตุ ในพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค แผลจะล้อมรอบด้วยวงสีเหลือง (yellow halo) และ ตรงกลางแผลอาจจะแห้งและหลุดเป็นรู

2.2.3 โรคใบจุดไหม้

โรคใบจุดไหม้เกิดจากเชื้อรา *Cercospora viscosae* มักพบระบาดควบคู่กับโรคใบจุดสีน้ำตาล ทำให้ผลผลิตลดลง 12 – 30 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการสูญเสียพื้นที่ใบ ใบเหลือง ร่วงเร็วกว่าปกติ ซึ่งเป็นการเปิดโอกาสให้วัชพืชเจริญเติบโตได้ดี เชื้อสาเหตุโรคทำให้ใบเป็นแผลจุดกว้างไม่มีขอบเขตเหมือนโรคใบจุดสีน้ำตาล จุดแผลจะกว้างมากแต่ละจุดอาจกว้างถึง 1 ใน 5 ของแฉกใบหรือมากกว่าด้านบนของใบ มักเห็นจุดแผลสีน้ำตาล ค่อนข้างสม่ำเสมอ ขอบแผลมีสีเหลืองอ่อน ด้านใต้ใบมักเห็นเป็นวงสีเทา เนื่องจากส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคเช่นเดียวกับโรคใบจุดสีน้ำตาลในมันสำปะหลังที่มีอายุมากกว่า 6 เดือน อาการของโรคจะรุนแรงมากกว่ามันสำปะหลังที่มีอายุน้อย การแพร่ระบาดเช่นเดียวกับโรคใบจุดสีน้ำตาล

2.2.4 โรคใบจุดขาว

โรคใบจุดขาวเกิดจากเชื้อรา *Phoeoramularia manihotis* (*Cercospora caribaea*) มีรายงานพบทั้งในทวีปเอเชีย อเมริกาเหนือ อัฟริกา และลาตินอเมริกา มักพบทั่วไปในเขตปลูกมันสำปะหลังที่ชื้นและเย็น การงอกของสปอร์เชื้อราต้องการอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส และความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะอาการ ใบเป็นจุดค่อนข้างเหลี่ยมถึงกลมขนาด 1-7 มิลลิเมตร แผลมักจะมีสีขาวมีขอบแผลสีน้ำตาลอมม่วง รอบวงสีเหลือง แผลจะจมเข้าไปในผิวใบทั้งสองด้าน ทำให้เห็นบริเวณแผลบางกว่าปกติ บางครั้งจะเห็นสีเทาของส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุและอาการโรคนี้มักพบควบคู่กับอาการขาดธาตุสังกะสี การป้องกันกำจัดส่วนใหญ่ใช้พันธุ์ต้านทาน

2.2.5 โรคแอนแทรคโนส

โรคแอนแทรคโนสมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis* เป็นหนึ่งในสามโรคที่สำคัญที่สุดของมันสำปะหลัง สายพันธุ์หรือพันธุ์มันสำปะหลังที่พันธุ์อ่อนแอและอายุมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคในระยะหลังปลูก 5 เดือน มันสำปะหลังจะยืนต้นตายทำให้เสียหายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสายพันธุ์หรือพันธุ์มันสำปะหลังที่ค่อนข้างทนทานต่อโรคยอดจะเน่าตาย ทำให้มีการเจริญเติบโตของกิ่งและยอดใหม่ ทำให้น้ำหนักของผลผลิตลดลงหรือเก็บ

เกี่ยวล่าช้า ผลผลิตเสียหาย 30–40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีผลต่อการนำไปเป็นท่อนพันธุ์เพื่อขยายพันธุ์ เนื่องจากท่อนพันธุ์จากต้นมันสำปะหลังที่เป็นโรคนี้แตกหน่อใหม่เพียง 40 – 60 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาแตกหน่อจะช้ากว่าปกติ 7 – 8 วัน และเมล็ดจากต้นมันสำปะหลังที่เป็นโรคนี้จะงอกเพียง 20 – 40 เปอร์เซ็นต์

โรคนี้มีหลายอาการขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อม ได้แก่ ความชื้นหรือปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และบนส่วนต่าง ๆ ของต้นมันสำปะหลัง ลักษณะอาการทั่วๆ ไป ลำต้นแก่เป็นแผลมีขอบเขตที่แน่นอน สีน้ำตาลหรือสีดำ ถ้ามีปริมาณน้ำฝนมากหรือความชื้นสูงแผลจะขยายตัว ลามขึ้นสู่ส่วนยอด ลำต้นอ่อน แผลมีขอบเขตไม่แน่นอน สีน้ำตาลอ่อน เมื่อมีความชื้นสูงจะขยายตัวสู่ยอด ทำให้ยอดตายอย่างรวดเร็ว เป็นรอยไหม้ที่โคนก้านใบติดกับลำต้นและก้านใบส่วนที่ติดกับตัวใบหักลู่ลง ในที่สุดจะร่วงหลุดทั้งต้น ใบไหม้ที่ขอบใบและปลายใบขยายตัวสู่กลางใบ ในที่สุดตัวใบจะไหม้หมดและหลุดร่วง ถ้าเป็นพันธุ์อ่อนแอมาก จะยืนต้นตายหรือพันธุ์ที่ค่อนข้างทนทานต่อโรค ยอดจะหัก ทำให้มีการแตกกิ่งหรือยอดใหม่ขึ้นมาทดแทนได้ และบางพันธุ์จะพบโคนต้นที่ติดกับพื้นดิน มีลักษณะบวมพอง เปลือกลำต้นแตกเป็นริ้วๆ เมื่อเวลาลมพัดจะเปราะหักง่าย โรคนี้จะระบาดไปกับท่อนพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ ฝน ลม แมลง และอุปกรณ์ทางการเกษตรต่าง ๆ

2.2.6 โรครากหรือหัวเน่า

โรครากหรือหัวเน่าเป็นโรคที่มีความสำคัญมาก ทำให้ผลผลิตสูญเสียโดยตรง โดยเฉพาะในแหล่งที่ดินระบายน้ำได้ยาก ฝนตกชุกเกินไปหรือในพื้นที่ที่เคยปลูกกาแฟ ยาง หรือเป็นป่าไม้มาแล้ว โรคนี้สามารถเกิดได้ทั้งในระยะต้นกล้าและระยะที่ลงหัวแล้ว โรครากหรือหัวเน่าเกิดจากเชื้อราสาเหตุหลายชนิด พบว่าสาเหตุของโรครากเน่ามีเชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด *Phytomonas* 1 ชนิด ทำให้ยากแก่การวินิจฉัย สำหรับเชื้อราสาเหตุที่สำคัญ คือ *Fusarium* spp., *Diplodia* spp., *Phytophyhora* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *P. drechsleri* และ *Pythium* sp. ลักษณะอาการโรค ต้นเหี่ยวเฉา ใบล่าง ๆ มีสีเหลือง และเหี่ยวแห้งหลุดร่วงลงมา ส่วนใบยอดมีขนาดเล็ก ต้นแคระแกรน ไม่เจริญเติบโต เมื่อขุดรากดูพบรากเน่าเละสีน้ำตาล มีกลิ่นเหม็น ในประเทศไทยเท่าที่สำรวจพบอยู่ 3 ชนิด คือ

1) โรคหัวเน่าแห้ง เกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus* (Fomes) *lignosus* ที่หัวมันสำปะหลังจะมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุม อาจพบบริเวณโคนต้นด้วย เนื้อในหัวจะเน่าแห้งและเส้นใยของเชื้อราจะก่อตัวเป็นดอกเห็ดสีต่าง ๆ ได้ เช่น สีขาว สีเหลือง หรือส้ม นอกจากนี้โคนต้นจะบวมเนื่องจากมีการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาทดแทนส่วนที่ถูกทำลายไปและอาจเกิดรากใหม่ตรงบริเวณเนื้อเยื่อที่บวม ทำให้เกิดหัวมันสำปะหลังใหม่ขึ้นมา แต่มีขนาดเล็ก

2) โรคหัวเน่าดำ เกิดจากเชื้อรา จะมีลักษณะหัวเน่าสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม เนื่องจากเป็นสีที่เกิดจากเส้นใยของเชื้อรา หรือส่วนขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา

3) โรคเน่าคอดิน เกิดจากเชื้อรา *Phytophtora drechsleri* และ *Pythium* spp. มักพบอาการในต้นกล้า ลักษณะต้นมันสำปะหลังจะเหี่ยวเฉาตายและมีเม็ดผักกาดพร้อมกับเส้นใยสีขาวปกคลุมส่วนของโคนต้นที่ติดอยู่กับผิวดิน

2.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control of plant disease) หมายถึง การนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่า ที่มีอยู่ทั่วไปตามบริเวณผิวพืชส่วนเหนือดิน (Munk vald and Marois, 1993; Handelsman and Parke, 1989) บริเวณรากและดินรอบราก (Larkin *et al*., 1989) ที่มีความสามารถในการแข่งขัน (competition) ทางด้านแหล่งแร่ธาตุอาหาร และแหล่งที่อยู่อาศัย การเป็นปรสิต (parasite) รวมถึงการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น (Campbell, 1989) ซึ่งถือว่าเป็นกลไกที่สำคัญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี (นิพนธ์ ทวีชัย, 2546) ในปัจจุบันได้มีการนำวิธีการในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมาใช้ควบคุมโรคที่สำคัญ ๆ ของข้าว กิจกรรมการยับยั้งของเชื้อปฏิปักษ์จะเป็นไปในลักษณะของ epiphytic fitness โดยการดำรงชีวิตและเพิ่มปริมาณประชากรอย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพในการแข่งขันแก่งแย่งทั้งทางด้านอาหารและแหล่งที่อยู่อาศัยได้ดี นอกจากนี้มีรายงานความก้าวหน้าเกี่ยวกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคของพืชหลายชนิดในประเทศไทย ได้แก่ *Paenibacillus* sp. SW01/4 จากผิวใบถั่วเหลือง (Prathuangwong *et al*., 2005) *Pseudomonas fluorescens* SP007s และ *B. subtilis* SP009s จากผิวใบกะหล่ำดอก *Serratia macescens* Spt360 และ *B. cereus* Spt245 จากดินป่า *P. aeruginosa* Spd155 จากเมล็ดสัก (Phiriyaprasath *et al*., 2002) *B. licheniformis* Spd20 จากเมล็ดงา และ *Bacillus* sp. (YP04, YP28, KP96 และ KP25) จากผิวใบข้าวโพด (Prathuangwong *et al*., 2005) และ *B. amyloliquefaciens* KPS46 จากดินแปลงถั่วเหลืองซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดนูน แอนแทรคโนส ราน้ำค้าง และโรคที่ระบบรากของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองฝักสด และยังสามารถควบคุมโรคเน่าเละ ขอบใบทอง และใบจุด Alternaria ของพืชตระกูลกะหล่ำ (วิลาวรรณ์, 2551) และควบคุมโรคสำคัญของข้าวโพดซึ่งเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ได้แก่ โรคใบขีดโปร่งแสง โรคเหี่ยว โรคใบไหม้แผลใหญ่ โรคใบไหม้แผลเล็ก และโรคลำต้นเน่า (นันทิยา, 2551) นอกจากนี้แบคทีเรียปฏิปักษ์ยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและชักนำความต้านทานโรคสำคัญ

ของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองฝักสด ข้าว ข้าวโพด งา สัก กระถินเทพา หน้าวัว และพืชตระกูลกะหล่ำ โดยการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานโรคของพืช เช่น phenylalanine ammonia lyase (PAL) peroxidase (POX) และ β-1,3-glucanase แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประโยชน์คุณาปการต่อระบบการผลิตพืชเศรษฐกิจหลายชนิด จึงเหมาะที่จะนำมาปรับใช้ในการผลิตพืชตามแนวทางเกษตรยั่งยืนเพื่อลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในระบบการผลิตและเพิ่มศักยภาพการผลิตอย่างยั่งยืน โดยการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจะต้องคำนึงถึงปัจจัยดังต่อไปนี้

1) การใช้ชีววิธีไม่ได้กำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืชให้หมดไป 100 เปอร์เซ็นต์ แต่จะลดปริมาณเชื้อลงจนถึงระดับสมดุลที่ไม่สร้างความเสียหายให้แก่พืชปลูก

2) การใช้ชีววิธีจะไม่เห็นผลทันที แต่จะมีผลในระยะยาวและมีประสิทธิภาพยาวนานกว่าการใช้สารเคมี

3) การใช้ชีววิธีจะมีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อสาเหตุโรคบางชนิดเท่านั้น

4) การใช้ชีววิธีไม่สามารถใช้ได้ตลอดเวลาและตลอดไป ต้องมีการสลับสับเปลี่ยนตามความเหมาะสมกับเชื้อสาเหตุโรค และสภาพแวดล้อม

2.4 เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide, EPS)

เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งอาจมีส่วนประกอบของโปรตีน หรือ ไขมัน ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ และถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ในลักษณะเป็นเมือก หรืออยู่กับเซลล์ในรูปของแคปซูล (capsules) พบพอลิแซคคาไรด์ได้มากในโครงสร้างของไบโอฟิล์ม (biofilm) ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ร่วมกันโดยการฝังตัว อยู่ภายใต้พอลิเมอร์ชีวภาพ และยึดเกาะอยู่บนพื้นผิวต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบนิเวศที่เปียกชื้น ซึ่งไบโอฟิล์มเมทริกซ์ประกอบด้วยน้ำมากกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ เซลล์จุลินทรีย์ พอลิเมอร์ เช่น เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ สารมัธยันตร์ชนิดต่าง ๆ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยของเซลล์ รวมถึงสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ (Magnuson, 2011) จึงจัดว่าไบโอฟิล์มของจุลินทรีย์เป็นพื้นฐานที่สำคัญ ในการหมุนเวียนพลังงานในระบบนิเวศ และเป็นรูปแบบการเจริญที่ทำให้จุลินทรีย์อยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Cortes *et al*., 2011) ทั้งนี้เซลล์จุลลินทรีย์ในธรรมชาติมักจะสร้าง พอลิแซคคาไรด์เพื่อปกคลุมไบโอฟิล์มและยึดเกาะกับพื้นผิว และประโยชน์อื่น ๆ ได้แก่ 1) การเพิ่มปริมาณสารอาหาร 2) การป้องกันเซลล์จากสารพิษและยาปฏิชีวนะ 3) การรักษากิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตและหลั่งออกนอกเซลล์ (extracellular enzymes) 4) การป้องกันเซลล์จากสภาวะวิกฤต 5)

เพื่อการรวมกลุ่มของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศที่เหมาะสม และ 6) เพื่อการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยของสังคมจุลินทรีย์ (sociomicrobiology) (Rendueles and Ghigo, 2012) ซึ่ง Odeyemi (2012) รายงานว่าการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์เป็นลำดับขั้นตอนที่ประกอบด้วย (1) การเกาะติดของเซลล์บนพื้นผิวทั้งชนิดที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) หรือไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยใช้พิไล (pili) ไกลโคคาลิกซ์ (glycocalyx) หรือฟิมเบรีย (fimbrae) 2) การเพิ่มจำนวนเซลล์ ตามด้วยการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์พอลิเมอร์ชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ จะมีชนิดและความหลากหลายแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ ทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีคุณสมบัติหลากหลายและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้จันทร์จนา (2539) รายงานผลการศึกษาวิจัยว่าได้แยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากอาหารหมักดองจำนวน 104 เชื้อ และจากน้ำอ้อยจำนวน 23 เชื้อ ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ชนิดแข็งและเหลวที่แปรชนิดของน้ำตาล คือ ซูโครส แลคโตส กลูโคส และฟรุคโตส พบว่าเชื้อ AP-1 และ AP-3 สามารถผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุดในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน การผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์นี้สัมพันธ์กับการเจริญ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีรวิทยา และชีวเคมี พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 จัดอยู่ในสปีชีส์ *Pediococcus pentosaceus* จากการศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต พบว่าเชื้อ AP-1 และ AP-3 ผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้น้ำหนักเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ต่อน้ำหนักซูโครสสูง เมื่อใช้อาหารที่ดัดแปลงสูตรโดยประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 4 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แหล่งไนโตรเจนที่ประกอบด้วย yeast extract เท่ากับ 0.5 และ 0.5 กรัม/ลิตร peptone เท่ากับ 1.5 และ 1.5 กรัม/ลิตร beef extract เท่ากับ 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แหล่งแร่ธาตุที่ประกอบด้วย $MgSO_4$ 0.2 และ 0.4 กรัม/ลิตร $MnSO_4$ เท่ากับ 0.025 และ 0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยมีภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แบบไม่ให้อากาศ ในภาวะที่เหมาะสมนี้เชื้อ AP-1 สามารถผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ได้ 6.32 กรัม/ลิตร ในขณะที่เชื้อ AP-3 สามารถผลิตได้ 18.56 กรัม/ลิตร เมื่อนำสารละลายเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ AP-1 และ AP-3 ไปทดสอบคุณสมบัติด้านความหนืดพบว่า มีลักษณะเป็นแบบ pseudoplastic โดยให้คุณสมบัติ shear thinning เมื่อ shear rate สูงขึ้นความหนืดจะลดลง อย่างไรก็ตามความหนืดของสารละลายไม่คงตัวต่ออุณหภูมิและที่ pH ต่ำและยังพบว่าเมื่อละลายเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl และ KCl ตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะมีผลทำให้ความหนืดของสารละลายสูงขึ้นแต่เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จาก AP-1 และ AP-3 จะไม่ละลายน้ำเมื่อความเข้มข้นของเกลือ KCl สูงถึง 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการจำแนกชนิดประจุของพอลิแซคคาไรด์ตามลักษณะประจุไฟฟ้า และชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบพบว่าเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์จากทั้ง AP-1 และ AP-3 มีประจุเป็น

กลาง และมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 90.25 และ 85.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณไนโตรเจน 0.001 และ 0.004 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีน้ำหนักโมเลกุล $6x10^{6}$ - $4x10^{7}$ ดาลตัน ตามลำดับ เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม มีรายงานการย่อยน้ำมันดีเซลโดย *Pseudomonas extremaustralis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียทะเลที่สร้างไบโอฟิล์ม (Tribelli *et al*., 2012) ส่วนการใช้ประโยชน์จาก แบคทีเรียที่ผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การนำเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ที่สร้างจากแบคทีเรียแล็กติก (lactic acid bacteria) ไปใช้เพิ่มเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต เนยแข็ง และนม (Patel *et al*., 2011) สำหรับตัวอย่างของพอลิแซคคาไรด์ที่นำไปใช้ด้านการแพทย์ เช่น เป็นตัวนำพายา (carrier) ใช้ในการเร่งการหายของแผล (wound healing) ใช้เป็นวัสดุปิดแผล หรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออื่น ๆ (ศิริพร และคณะ, 2549) จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียที่สร้างไบโอฟิล์มเป็นแหล่งของพอลิเมอร์ชีวภาพที่น่าสนใจ และควรจะได้รับการศึกษาวิเคราะห์ให้แพร่หลายมากขึ้น

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้เพื่อสกัดและทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ เรือนปลูกพืชทดลอง และสภาพไร่แบบเกษตรอินทรีย์ รวมทั้งกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร indole-3-acetic acid (IAA) และ salicylic acid (SA) เพื่อเป็น elicitor ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตแข็งแรงรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* sp. ตลอดจนพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ชนิดน้ำที่สะดวกต่อการใช้ เก็บรักษาได้ยาวนาน และทราบรายละเอียดของการใช้และวิธีการใช้ เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรหันกลับมาใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการปลูกพืชกันมากขึ้น เพื่อลดและ/หรือทดแทนฮอร์โมน ปุ๋ยเคมี และสารเคมีสังเคราะห์ได้อย่างยั่งยืน ซึ่งมีรายละเอียดการศึกษาวิจัยดังนี้

3.1 การแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง

เก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า จากแหล่งผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา และบุรีรัมย์ โดยกำหนดพื้นที่สำรวจแบบสุ่มกระจายทั่วแปลงเป็นจำนวน 10 จุด ต่อแปลงในลักษณะตัวอักษร W ซ้าย โดยเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ รัดปากถุงให้แน่น เขียนข้อมูลรายละเอียด ได้แก่ พันธุ์ อายุ วันเดือนปีที่เก็บ เพื่อจัดเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อไป นำตัวอย่างมันสำปะหลังที่คาดว่าเป็นโรครากหรือหัวเน่า มาแยกสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 – 4 วัน และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะวุ้นบริเวณขอบโคโลนี และย้ายลงอาหาร PDA ใหม่ จากนั้นศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. บนอาหาร corn meal agar (CMA) เมื่ออายุครบ 24 ชั่วโมง ทำการวัดขนาดโคโลนี และทำการจำแนกชนิดเชื้อรา *Pythium* sp. โดยวิธี water culture โดยการตัดชิ้นวุ้นอาหาร CMA ที่มีเชื้อรา *Pythium* sp. เจริญอยู่ ขนาดชิ้นละ 1 x 1 เซนติเมตร แล้วนำมาวางให้ห่างกันในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่าจานละ 2 ชิ้น นำหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) ที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาวางบนชิ้นวุ้นซึ่งมี *Pythium* sp. เจริญอยู่ 1 – 2 ชิ้นต่อวุ้น 1 ชิ้น จากนั้นใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อท่วมชิ้นวุ้น เปลี่ยนน้ำทุก 24 ชั่วโมง

บ่มไว้ 3 วัน นำมาตรวจดูลักษณะเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วสังเกต sporangia, oospore, oogonium antheridium discharge tube และ encysted zoospore ตามวิธีการของ Waterhouse (1967, 1968) และทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ด้วยวิธีราดดิน โดยเตรียม suspension ของเชื้อรา ความเข้มข้น 10^6 สปอร์หรือเส้นใยต่อมิลลิลิตร นับจำนวนโดยใช้ haemacytometer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ราดลงไปในดินซึ่งมีต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน เจริญอยู่ จำนวน 10 ซ้ำ จากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมดินไว้ 2 วัน เพื่อรักษาความชื้นในดินให้เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา สังเกตและประเมินการเกิดและไม่เกิดโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง และคัดเลือกสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงและรวดเร็วไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

นำเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มาเลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแตกต่างกันได้แก่ 0 2.5 5 และ 7.5 กรัม/ลิตร เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนของแบคทีเรียและมีผลต่อปริมาณการสร้างสารพอลิแซคคาไรด์ในแบคทีเรียทั่วไป (Rehm, 2010) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการปั่นแยกเอาเซลล์เชื้อปฏิปักษ์ SP007s ออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 5,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที จากนั้นตกตะกอนสารพอลิแซคคาไรด์เพื่อแยกน้ำใน supernatant ออกโดยใช้ petroleum ether และ anhydrous sodium sulfate จากนั้นระเหยแห้ง petroleum ether ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ได้ในปริมาณมากที่สุด สำหรับใช้ในกระบวนการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ต่อไป

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้ง *Pythium* sp.

เมื่อทราบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s แล้วจึงทำการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์และเจือจางที่ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm สำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังและควบคุมโรครากและหัวเน่าของมันสำปะหลังทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง

3.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้ง *Pythium* sp.ด้วยวิธี agar diffusion

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. โดยใช้วิธี agar diffusion แบบ completely randomized design (CRD) กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ในสภาพอุณหภูมิห้อง (ดัดแปลงจาก อุดมลักษณ์ และคณะ, 2544) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะอาหาร PDA ที่เตรียมใหม่ จานละ 4 หลุม และเจาะอาหาร PDA ซึ่งมี *Pythium* sp. เจริญอยู่เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วย้ายมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อจานใหม่ จานละ 1 ชิ้น จากนั้นใช้ micropipette ดูดสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมแต่ละหลุมที่เจาะไว้ จานละ 1 ความเข้มข้น เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมด้วยการใช้เชื้อสด SP007s ความเข้มข้น 1 x 10^8 cfu/ml (T5) สารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (T6) สารสังเคราะห์ salicylic acid (T7) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) หรือหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แทนสารพอลิแซคคาไรด์ บ่มในสภาพอุณหภูมิห้องนาน 72 - 96 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งเส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp. เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจและบันทึกผล โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Pythium* sp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เปรียบเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Pythium* sp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อกรรมวิธีอื่น ๆ แล้วบันทึกผลการทดลองและหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

B = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่หยดสารทดสอบต่าง ๆ

วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดย Duncan’s new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. ไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

3.3.2 ทดสอบการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp.

การทดสอบการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp. ของสารพอลิแซคคาไรด์ ที่ความเข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมด้วยการใช้เชื้อสด SP007s ความเข้มข้น 1 x 10^8 cfu/ml (T5) สารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (T6) สารสังเคราะห์ salicylic acid (T7) ความเข้มข้น 2.5 mM ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) หรือหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9) ด้วยวิธี poison medium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยการทดสอบบนอาหาร PDA ซึ่งผสมสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล หรือสารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหรือหยดตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ อัตราสารทดสอบ 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร PDA 20 มิลลิลิตร แล้วกระจายซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. ที่ความเข้มข้น 1x10^6 สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์หลังจากทำการปลูกเชื้อแล้ว 16 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Jatisatienr and Jatisatienr, 1999; Prusky *et al.,* 1982)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

B = จำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารทดสอบต่าง ๆ

วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *Pythium* sp. ไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

3.4 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

3.4.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต

ทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ด้วยวิธีจุ่มท่อนพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ

เริ่มจากการคัดเลือกท่อนพันธุ์ที่มีอายุ 10-12 เดือน ท่อนละ 20 เซนติเมตร มีตาไม่น้อยกว่า 5 ตา ตัดทิ้งไว้ไม่เกิน 15 วัน ล้างท่อนพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ผึ่งพอหมาด ๆ นำมาแช่ในสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm นาน 15 นาที เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมร่วมกับมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T7) ผึ่งพอหมาด ๆ จากนั้นนำท่อนพันธุ์ที่ผ่านการแช่กรรมวิธีต่าง ๆ ไปปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 นิ้ว เมื่อต้นมันสำปะหลังเริ่มแตกใบจริงที่ 2 จะเริ่มเก็บใบมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นบดใบมันสำปะหลัง 0.1 กรัม ใน homogenization buffer [Tris – HCl buffer pH 7 ความเข้มข้น 0.1 โมล, KCl ความเข้มข้น 0.1 โมล, PMSF ความเข้มข้น 1 มิลลิโมล, leupeptin ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) Triton X-100 และ PVPP ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (มวล/ปริมาตร)] ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำ homogenate ที่สกัดได้จากใบมันสำปะหลัง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Salkowski's reagent ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 535 nm (Specphotometer รุ่น EC1011) โดยใช้หลักการความเข้มของสีที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร indole-3-acetic acid (IAA) กับกรด sulfuric (colorimeter) คำนวณปริมาณสาร IAA เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และทำการประเมินผล โดยวัดจำนวนใบ จำนวนยอด ความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนราก เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1, 2 และ 3 เดือน วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลังและกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร IAA สูงที่สุดไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

3.4.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp.

ทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ด้วยวิธีแช่ท่อนพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ เริ่มจากการคัดเลือกท่อนพันธุ์ที่มีอายุ 10-12 เดือน ท่อนละ 20 เซนติเมตร มีตาไม่น้อยกว่า 5 ตา ตัดทิ้งไว้ไม่เกิน 15 วัน ล้างท่อนพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ผึ่งพอหมาด ๆ นำมาจุ่มในสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm นาน 15 นาที เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมร่วมกับมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T7) ผึ่งพอหมาด

ๆ จากนั้นนำท่อนพันธุ์ที่ผ่านการแช่สารทดสอบในกรรมวิธีต่าง ๆ ไปปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 นิ้ว เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 เดือน ทำการปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์หรือเส้นใย/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต่อกระถาง ด้วยวิธีราดดิน ประเมินความรุนแรงของโรคจากจำนวนรากที่แสดงอาการเน่า 7 วัน หลังปลูกเชื้อ วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลังไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

3.4.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Salicylic acid (SA)

ศึกษาประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ในการกระตุ้นให้มันสำปะหลังผลิตสาร SA ซึ่งเป็นสารในระบบภูมิต้านทานพืชที่ผลิตขึ้นเพื่อปกป้องตนเองขณะถูกเชื้อโรคเข้าทำลายหรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม โดยนำตัวอย่างใบมันสำปะหลังก่อนและหลังปลูกเชื้อโรครากและหัวเน่าอย่างละ 5 วัน รวมเป็น 10 วัน ที่เก็บมาในแต่ละกรรมวิธีในข้อ 3.4.2) มาบดให้ละเอียดใน methanol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราใบมันสำปะหลัง 1 กรัม ต่อ methanol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นตกตะกอนที่ 15,000 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นส่วนที่เป็นตะกอนที่เหลือจากการปั่นตกตะกอนครั้งแรก นำมาสกัดใน methanol ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 g เป็นเวลา 15 นาที อีกครั้ง นำส่วนที่เป็นของเหลวใสมาละลายใน methanol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นใช้ thin layer chromatography เป็นตัวแยกสารละลาย พร้อมกับเตรียม standard SA ละลายใน methanol ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเปรียบเทียบกับสารละลายที่ได้ และวิเคราะห์ระดับของ SA ตามวิธีของ Schneider-Muller *et al.* (1994)

3.5 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในสภาพไร่

ทดสอบประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ด้วยวิธีแช่ท่อนพันธุ์ ในสภาพไร่นาในพื้นที่ จ. นครราชสีมา ซึ่งมีโรครากและหัวเน่าระบาดอยู่ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ เริ่มจากการคัดเลือกท่อนพันธุ์ที่มีอายุ 10-12 เดือน ท่อนละ 20 เซนติเมตร มีตาไม่น้อยกว่า 5 ตา ตัดทิ้งไว้ไม่เกิน 15 วัน ล้างท่อนพันธุ์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ผึ่งพอหมาด ๆ นำมาแช่ในสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 100

(T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm นาน 15 นาที เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมร่วมกับมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T7) ผึ่งพอหมาด ๆ รวม 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 (T1) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและพ่นใบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 2 (T2) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้น 100 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 3 (T3) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้น 200 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 4 (T4) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้น 500 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 5 (T5) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้น 1,000 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 6 (T6) แช่ท่อนพันธุ์ด้วย salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล และพ่นใบด้วย salicylic acid ความเข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 7 (T7) แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมร่วมกับมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และพ่นใบด้วยสารเคมีชนิดเดิม เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน

จากนั้นนำท่อนพันธุ์ที่ผ่านการแช่สารทดสอบในกรรมวิธีต่าง ๆ ไปปลูกในแปลงขนาด 10 x 10 เมตร โดยใช้ระยะระหว่างแถว 1.20 เมตร ระยะระหว่างต้น 80 เซนติเมตร และปักท่อนพันธุ์ให้ตั้งตรงลึกในดิน 10 เซนติเมตร บันทึกและประเมินผลการทดลองตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวโดยเก็บข้อมูล 2 ลักษณะ คือ (1) ข้อมูลด้านการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง (ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนราก เปอร์เซ็นต์แป้ง และน้ำหนักสด) จากการสุ่มตัวอย่างมันสำปะหลัง จำนวน 20 ต้น/กรรมวิธี (2) ข้อมูลการระบาดของโรครากและหัวเน่าที่พบในธรรมชาติ วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan’s new multiple range tests (DMRT)

3.6 พัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์

นำสารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ความเข้มข้น 500 ppm มาเติมสารลดแรงตึงผิว 0.1 เปอร์เซ็นต์ และเก็บไว้ในภาชนะพลาสติกมีฝาปิดในสภาพอุณหภูมิห้องนาน 3 6 และ 9 เดือน จากนั้นนำสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีอายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) สารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T5) สารจับใบ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion ดังรายละเอียดวิธีการวิจัยข้อ 3.3.1 และทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองด้วยวิธีการแช่ท่อนพันธุ์และปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 เดือน ดังรายละเอียดวิธีการวิจัยข้อ 3.4.2 รวมทั้งทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังในสภาพไร่ด้วยวิธีการแช่ท่อนพันธุ์ ดังรายละเอียดวิธีการวิจัยข้อ 3.5 เพื่อเป็นรายละเอียดของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ต่อไป

สถานที่ทำการทดสอบ

ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง สาขาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง	1 ตุลาคม 2556
เสร็จสิ้นการทดลอง	30 พฤศจิกายน 2558

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง

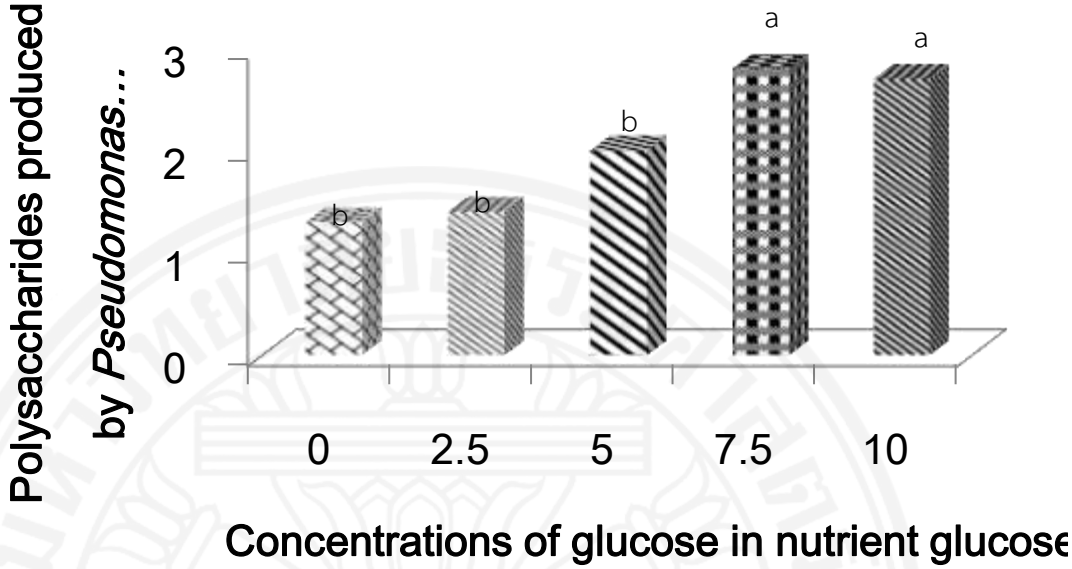
จากการรวบรวมเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า จากแหล่งผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา และบุรีรัมย์ พบว่าสามารถรวบรวมเชื้อราที่คาดว่าเป็น *Pythium* sp. ได้ 24 ไอโซเลท โดยทั้ง 24 ไอโซเลท มีเส้นใยสีขาว เจริญเป็นเส้นตรง ไม่ฟูมาก คล้ายปุยสำลีหรือใยแมงมุม เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ภายใน 2 – 3 วัน เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยมีลักษณะใส ผิวผนังเรียบ ไม่มีผนังกั้น มีกิ่งก้านสม่ำเสมอ ค่อนข้างเป็นระเบียบ สอดคล้องกับรายงานของ อมรรัตน์ และพีระวรรณ (2549) เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ด้วยวิธีราดดิน เนื่องจาก *Pythium* เป็นเชื้อราพวก water mold และเป็นเชื้อโรคพวก soil borne มักอาศัยอยู่บนเศษซากพืชและอินทรียวัตถุต่าง ๆ (ทวี, 2549) พบว่า ไอโซเลท 3 สามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด ส่งผลให้รากมันสำปะหลังเน่าภายใน 7 วัน (ภาพที่ 4.1) เนื่องจากเส้นใยเจริญได้รวดเร็ว จึงเลือกไอโซเลท 3 มาศึกษาการเจริญบนอาหาร corn meal agar (CMA) พบว่าเมื่ออายุครบ 24 ชั่วโมง มีขนาดโคโลนี 34.2 มิลลิเมตร และเมื่อนำไอโซเลท 3 ไปเลี้ยงใน water culture เป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อรามีการผลิต sporangia, oospore, oogonium antheridium discharge tube และ encysted zoospore ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อรา *Pythium* sp. (Waterhouse, 1967; 1968) และมีแนวโน้มเป็น *P. aphanidermatum* เนื่องจากมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่า 20 มิลลิเมตร ดังรายงานของ จิระเดช และคณะ (2534) ว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *Pythium* sp. บนอาหาร PDA หรือ BNPRA+Rb สามารถใช้จำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* sp. ได้ โดยโคโลนีที่มีขนาดตั้งแต่ 20 มิลลิเมตร ขึ้นไป หลังบ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมง ส่วนใหญ่เป็น *P. aphanidermatum* และโคโลนีที่มีขนาดเล็กกว่า 20 มิลลิเมตร ส่วนใหญ่เป็น *Pythium* ชนิดอื่น รวมทั้ง *P. aphanidermatum* จะก่อให้เกิดโรครุนแรงและรวดเร็วกว่า *Pythium* ชนิดอื่น อย่างไรก็ตามความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ *P. aphanidermatum* จะมีความผันแปรอยู่ในช่วง 62.5 - 98.25 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ *Pythium* ชนิดอื่นบางสายพันธุ์ สามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงได้ถึง 50.94 เปอร์เซ็นต์ จึงคัดเลือก *Pythium* sp. ไอโซเลท 3 ไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป นอกจากนี้การใช้เหยื่อล่อในการแยกเชื้อรา *Pythium* sp. สามารถพบ *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่าการเจือจางดิน (SSDP) และมีความจำเพาะสูงมาก นอกจากนี้การใช้เหยื่อล่อยังมีประสิทธิภาพ

ในการตรวจเชื้อ *Pythium* sp. ในตัวอย่างดินที่มีปริมาณน้อย ๆ ภายในระยะเวลาอันสั้นอีกด้วย (จิระเดช และคณะ, 2534)

ภาพที่ 4.1 เส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp. (ก และ ข) และอาการยอดเน่าแห้ง (ค) บนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 หลังปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. ไอโซเลท 3 (ง) เป็นเวลา 7 วัน

4.2 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s โดยการปรับปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคส 7.5 กรัม ขึ้นไป จากปกติ 5 กรัม ลงใน NGB ส่งผลให้เชื้อปฏิปักษ์ SP007s ผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุด 2.8 กรัม/ลิตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ (p=0.05) ดังภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสมีผลต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สอดคล้องกับรายงานของ (Rehm, 2010) แต่จากผลการศึกษาเลือกการเติมน้ำตาลกลูโคส 7.5 กรัม ใน NGB 1 ลิตร เนื่องจากให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการเติมน้ำตาลกลูโคส 10 กรัม/ลิตร ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์และการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป



ภาพที่ 4.2 ปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s จากการเลี้ยงภายใต้สภาพที่มีปริมาณกลูโคสแตกต่างกัน

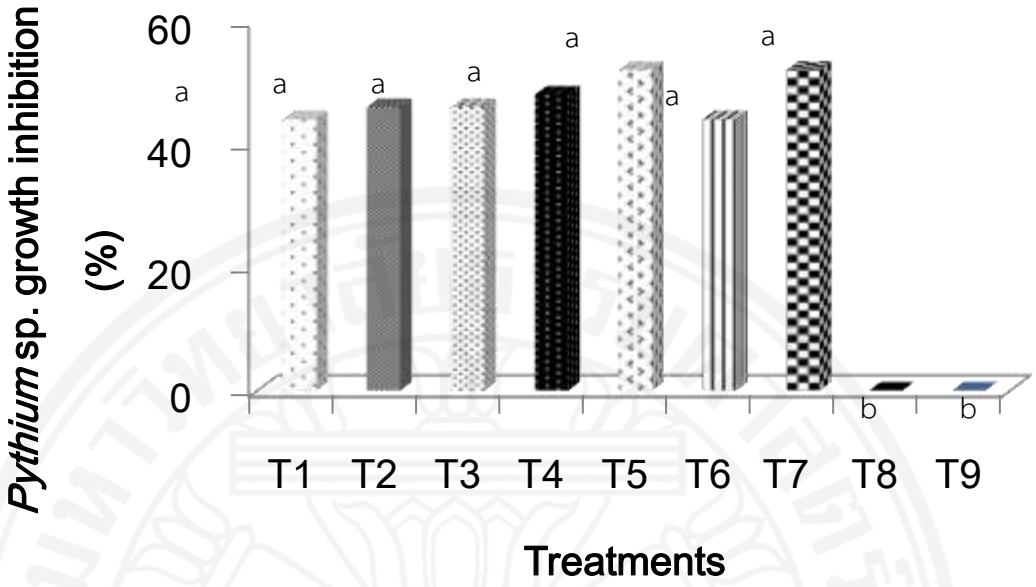
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการยับยั้ง *Pythium* sp.

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm ในการยับยั้ง *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm (T1 - T4 ตามลำดับ) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้เชื้อสด SP007s (T5) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (T6) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (T7) ขณะเดียวกันผลการศึกษายังแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. บ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ทัดเทียมกับการใช้เชื้อสด SP007s (T5) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (T6) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (T7) ดังภาพที่ 4.3 – 4.5

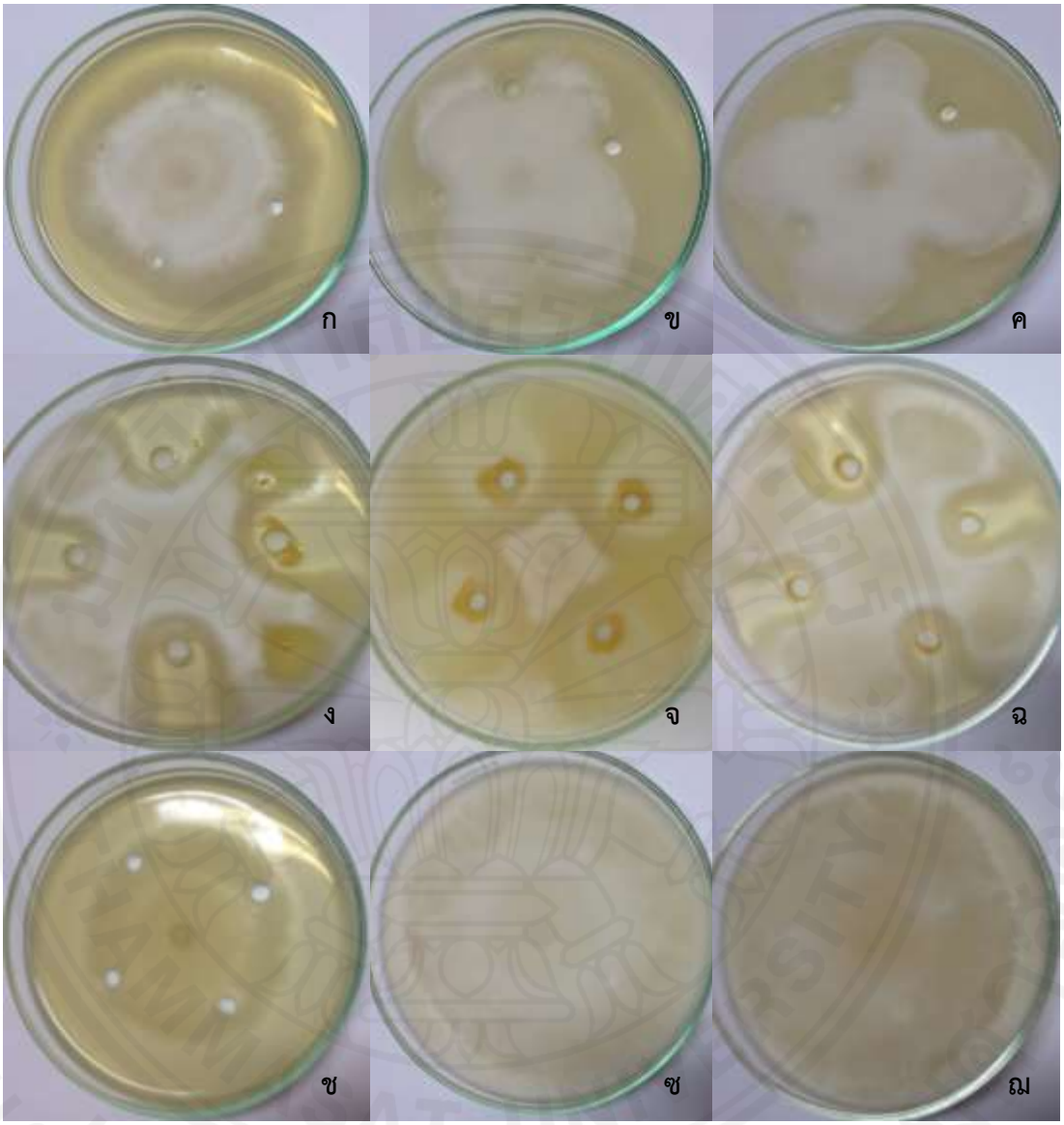
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s จากดินบริเวณรากกะหล่ำดอก มีการศึกษาวิจัยต่อเนื่องนานกว่า 9 ปี มีศักยภาพในการส่งเสริมการผลิตพืชเศรษฐกิจ

นานาชนิด (พืชไร่ พืชสวน ข้าว ผัก และไม้ดอกไม้ประดับ) ด้วยคุณลักษณะพิเศษต่อพืชหลายประการ (Prathuangwong and Buensanteai, 2007; Chatnaparat *et al*., 2009) เช่น ศึกษาการผลิต siderophores ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการจับกับอนุมูลของธาตุเหล็กในดิน ทำให้ธาตุเหล็กอยู่ในรูปแบบที่แบคทีเรียและพืชเศรษฐกิจนำไปใช้ได้ดี ตลอดจนเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิตสารปฏิชีวนะหลายชนิดยั้บยั้งเชื้อโรคได้โดยตรง รวมทั้งสามารถผลิตฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins กระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจเจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรงอย่างรวดเร็วและรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค รวมทั้งการผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิต้านทานหลายชนิด (antioxidant enzymes) ซึ่งส่งผลให้พืชมีผลผลิตที่ดีมีคุณภาพเพิ่มขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นได้มีการตรวจสอบแล้วไม่พบยีน *hrcN* ในเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ซึ่งยีนชนิดนี้จำเป็นต่อการก่อให้เกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ (วิลาวรรณ์ และคณะ, 2549; Prathuangwong, 2009) จึงสามารถนำ SP007s ไปใช้ได้อย่างปลอดภัย โดยไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพและสภาพแวดล้อม โดยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถเพิ่มผลผลิตพืชคุณภาพได้ดี และสามารถใส่ให้พืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีหรือใช้ร่วมและ/หรือใช้สลับกับสารเคมีชนิดต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งสามารถนำไปใช้ได้กับระบบการปลูกพืชทุกชนิดและทุกท้องที่ที่มีสภาพแวดล้อมผิดแปลกแตกต่างกัน เช่น การใช้ในระบบการจัดการศัตรูถั่วเหลืองและถั่วเหลืองฝักสด ข้าว พืชผักตระกูลกะหล่ำ และข้าวโพด เป็นต้น สายพันธุ์ SP007s มีความทนทานต่อสารควบคุมศัตรูพืช และสารละลายธาตุอาหารต่างๆ ได้ดี (Athinuwat *et al*., 2013a; 2013b; 2013c; Prathuangwong *et al*., 2009a; 2009b) การใช้สายพันธุ์ SP007s ร่วมในระบบการผลิตพืชจึงสามารถลดการใช้สารเคมีหรือใช้เท่าที่จำเป็น และลดค่าใช้จ่ายหรือต้นทุนในการผลิตพืชให้ต่ำลง ขณะเดียวกันผู้ผลิตจะได้พืชผลคุณภาพปลอดภัย โดยไม่มีสารเคมีสังเคราะห์ตกค้างทั้งในผลผลิตและสภาพแวดล้อม และนอกจากนี้แบคทีเรียปฏิปักษ์จะยังคงอยู่ในสภาพแวดล้อมการปลูกพืชนั้นๆ ได้ยาวนานต่อเนื่อง ไม่สูญสลายหรือใช้ซ้ำบ่อยครั้งเช่นสารเคมี ตลอดจนมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและไม่ทำลายระบบนิเวศเกษตร จากการศึกษาวิจัยพบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในระบบการผลิตถั่วเหลืองฝักสดมีประสิทธิภาพสูงในด้านส่งเสริมการผลิต ต้นทุนต่ำ ลดการใช้สารเคมีและให้ผลตอบแทนที่สูงกว่าการปฏิบัติดั้งเดิมของเกษตรกร (สุดฤดี และคณะ, 2549) เมื่อนำไปใช้ในนาข้าวสามารถให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจากการปฏิบัติแบบดั้งเดิมเฉลี่ย 53.4 เปอร์เซ็นต์ ลดการใช้ปุ๋ยยูเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ ลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ด้านป้องกันกำจัดโรคพืชและแมลงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคขอบใบแห้ง โรคใบไหม้ โรคเมล็ดด่าง และโรคใบจุด ได้เท่ากับ 47, 37, 13 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลดจำนวนแมลงพาหะได้ 60 เปอร์เซ็นต์ เกษตรกรจึงมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นมีเวลาที่สามารถนำไปทำประโยชน์อื่นเพิ่มขึ้น ทั้งยังเจ็บไข้ได้ป่วยน้อยลง (Prathuangwong *et al*., 2010, 2011a; 2011b; 2012a; 2012b; 2012c; 2013)

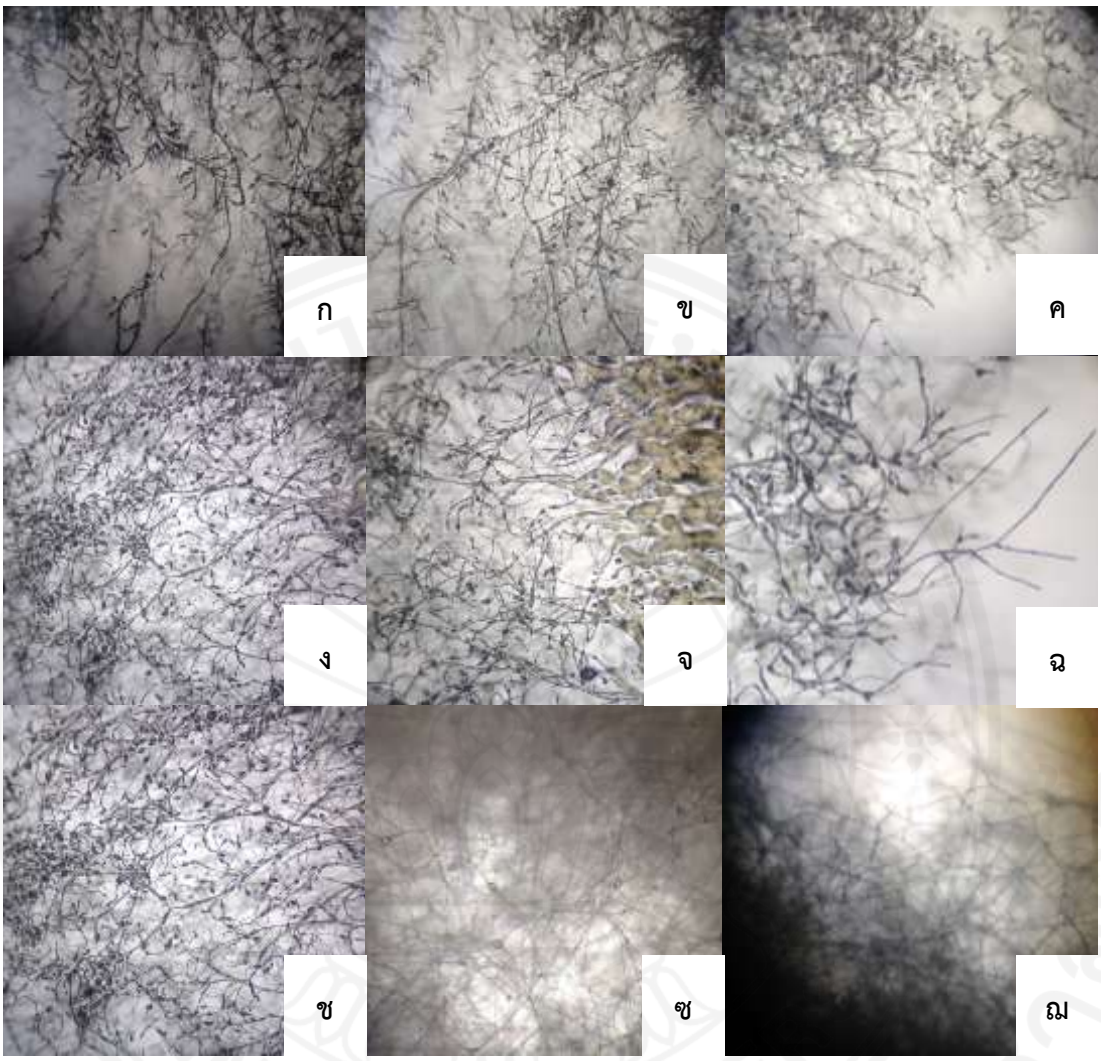
การคลุกเมล็ดก่อนปลูกและพ่นด้วยเชื้อสดของ SP007s ที่ความขุ่น 0.1 OD สามารถลดความรุนแรงโรคเน่าเละของพืชผักตระกูลกะหล่ำได้สูง 75.26 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ พบว่าการคลุกเมล็ดด้วย SP007s ความขุ่น 0.15 OD ก่อนปลูก และพ่นใบด้วยความขุ่น 0.1 OD 4 ครั้ง ที่อายุพืช 14, 28, 32 และ 46 วัน มีประสิทธิภาพสูงในการเสริมการเจริญเติบโตและลดความรุนแรงโรคเน่าเละ ขอบใบทอง และใบจุดอัลเทอร์นาเรียของพืชผักตระกูลกะหล่ำได้ดีที่สุด โดยลดความรุนแรงของโรคทั้ง 3 ชนิดได้ 80.26 82.08 และ 86.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และผลผลิตสูงสุด 1.97 ตัน/ไร่ (วิลาวรรณ์ และสุดฤดี, 2550) รวมทั้งการนำ SP007s มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเน่าดำของคะน้าในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค และพบว่าการคลุกเมล็ดก่อนปลูกร่วมกับการพ่นใบ 2 ครั้งด้วย SP007s แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยสามารถลดความรุนแรงโรคเน่าดำได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (ติยากร และ สุดฤดี, 2550) และมีรายงานการนำไปใช้ร่วมกับชีวภัณฑ์และจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ เช่น การใช้ร่วมกับแบคทีเรียสายพันธุ์ SP009s คลุกเมล็ดและพ่นด้วยสายพันธุ์ SP007s ร่วมกับสารชีวภัณฑ์สาหร่าย (เกอมาร์ บี เอ็ม8®) มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากะหล่ำดอกในส่วนของน้ำหนัก ความสูง และความยาวใบ ได้ดีที่สุด เท่ากับ 22.95 19.03 และ 14.34 เซนติเมตร ตามลำดับ และสามารถควบคุมโรคเน่าเละของกะหล่ำดอกที่เกิดจาก *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ได้ดีที่สุดโดยความรุนแรงของโรคต่ำสุดเพียง 17.30 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ผลผลิตในกรรมวิธีดังกล่าวดีที่สุดเท่ากับ 1.70 ตัน/ไร่ ขณะที่การใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ SP007s คลุกเมล็ดและใช้ SP007s ร่วมกับสารสกัดสาหร่าย (เกอมาร์ บี เอ็ม8®) พ่นใบสามารถควบคุมโรคขอบใบทองของกะหล่าดอกที่เกิดจาก *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุด โดยความรุนแรงของโรคต่ำสุด 8.03 เปอร์เซ็นต์ และมีผลผลิตเท่ากับ 1.67 ตัน/ไร่ (วิลาวรรณ์ และคณะ, 2550) ที่สำคัญอีกประการคือมีรายงานการประเมินความเสี่ยงผลกระทบต่อประชากรแบคทีเรียอื่น ๆ ในธรรมชาติเมื่อใช้ SP007s ในการผลิตกะหล่ำดอกพบว่าประชากรของแบคทีเรียบริเวณรอบๆ รากหลังการเก็บเกี่ยวพืชไม่มีการเปลี่ยนแปลงและ/หรือเพิ่มขึ้น 2-4 เท่า (saprophytic bacteria) ขณะที่ประชากรเชื้อสาเหตุโรคเน่าเละ มีจำนวนลดลง (วิลาวรรณ์ และ สุดฤดี, 2550) *P. fluorescens* SP007s จึงเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อการผลิตพืช



ภาพที่ 4.3 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (T5) แคปแทน (T6) salicylic acid (T7) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9)



ภาพที่ 4.4 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (ก) 200 (ข) 500 (ค) และ 1,000 (ง) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (จ) แคปแทน (ฉ) salicylic acid (ช) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (ซ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ฌ)



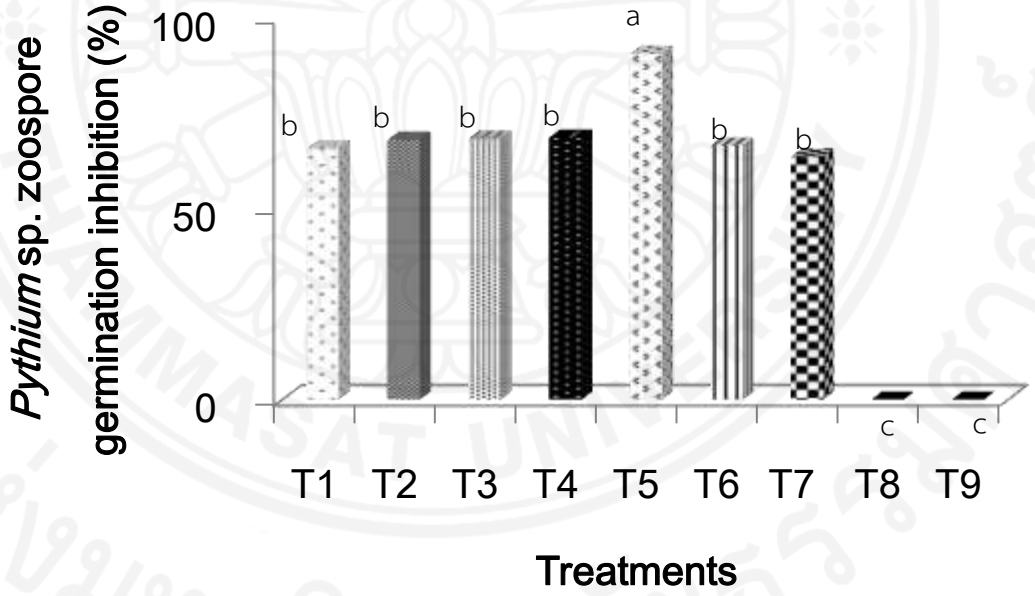
ภาพที่ 4.5 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (ก) 200 (ข) 500 (ค) และ 1,000 (ง) ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (จ) แคปแทน (ฉ) salicylic acid (ช) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (ซ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ฌ) โดยสารพอลิแซคคาไรด์ทุกระดับความเข้มข้น (ก – ง) ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ (abnormal growth) หดสั้น บวมพอง (swollen) เช่นเดียวกับการใช้เชื้อสด SP007s (จ) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (ฉ) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid (ช) ขณะที่การใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp.

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Pythium* sp. ที่มีการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 (T1 : ภาพที่ 4.5ก) 200 (T2 : ภาพที่ 4.5ข) 500 (T3 : ภาพที่ 4.5ค) และ 1,000 (T4 : ภาพที่ 4.5ง) ppm และเชื้อสด SP007s (T5 : ภาพที่ 4.5จ) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (T6 : ภาพที่ 4.5ฉ) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (T7 : ภาพที่ 4.5ช) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8 : ภาพที่ 4.5ซ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9 : ภาพที่ 4.5ฌ) พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกระดับความเข้มข้น (T1 – T4) ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ (abnormal growth) หดสั้น บวมพอง (swollen) และชะงักการเจริญ เช่นเดียวกับการใช้เชื้อสด SP007s (4.5จ) สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (4.5ฉ) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid (4.5ช) ขณะที่การใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp. ดังภาพที่ 4.5ซ และ 4.5ฌ

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ความเข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ในการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. ด้วยวิธี water culture พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm (T1 - T4 ตามลำดับ) มีประสิทธิภาพด้อยกว่าการใช้เชื้อสด (T5) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) ขณะเดียวกันสารพอลิแซคคาไรด์ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (T6) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T7) และการใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9) ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. (p=0.05) บ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ทัดเทียมกับการใช้สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ (T6) หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T7) ดังภาพที่ 4.6

ผลจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Pagliaccia *et al*. (2007) พบว่า fluorescent pseudomonad มีกลไกการผลิตสาร siderophores ซึ่งมีประสิทธิภาพในการแย่งจับธาตุเหล็กที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา *Pythium* ส่งผลให้สามารถควบคุมโรครากเน่าของพืชที่เกิดจากเชื้อราชนิดนี้ได้ และสอดคล้องกับ จักรพงษ์ และคณะ (2554) รายงานประสิทธิภาพ *Pseudomonas* spp. ECO 008 และ SSWC 110 ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium myriotylum* ในระบบการปลูกพืชไร้ดิน เมื่อพิจารณากลไกของสารพอลิแซคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยังยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. พบว่าเส้นใยหดสั้น บวมพอง ชะงักการเจริญเติบโต สอดคล้องกับรายงานของ จักรพงษ์ และคณะ (2554) พบว่า *Pseudomonas* sp. ECO

008 มีอิทธิพลทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. myriotylum* มีการแตกแขนงตรงส่วนปลายมากขึ้น ตลอดจนปลายเส้นใยมีลักษณะหงิก งอ ผิดปกติ ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065 สายพันธุ์ RCO 010 สายพันธุ์ RWC 021 และสายพันธุ์ SSMIX 023 ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคมีการเคลื่อนที่ของ cytoplasm ที่ผิดปกติ ส่งผลให้บริเวณส่วนปลายเส้นใยแตกแขนงผิดปกติเช่นเดียวกับรายงานของ Nelson *et al*. (1986) พบว่าแบคทีเรีย *Enterobacter cloacae* ผลิตสารจำพวก cell wall-degrading enzymes ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรา *P. ultimum* ถูกย่อยสลาย และ Budi *et al*. (2000) รายงานว่า *Paenibacillus* sp. สายพันธุ์ B2 ผลิต cellulase protease chitinase และ pectinase ที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายเส้นใยและองค์ประกอบภายในเซลล์เชื้อรา *P. parasitica* *Pythium* sp. *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* ทำให้เกิดรอยรั่วบนผนังเซลล์และเกิดอาการบิดเบี้ยวของเส้นใย รวมทั้งเกิด vesicle สะสมที่บริเวณระหว่างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์



ภาพที่ 4.6 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T1) 200 (T2) 500 (T3) และ 1,000 (T4) ppm ในการยับยั้งการงอกของซูโอสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp. เปรียบเทียบกับเชื้อสด SP007s (T5) แคปแทน (T6) salicylic acid (T7) ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (T8) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T9)

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

4.4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออน (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) พบว่าท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านการแช่สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm (T4) ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 2 และ 3 เดือน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดทุกตัวชี้วัดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนแทนอัตราแนะนำ (T7) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 – 4.3

โดย T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.82 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 5.83 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 3.32 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 13.90 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 49.53 ราก ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.71 และ 3.00 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 3.65 และ 4.42 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 2.40 และ 2.90 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 18.40 และ 8.50 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 37.82 และ 39.54 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.93 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 10.23 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 8.96 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 18.42 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 50.13 ราก ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.14 และ 3.51 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 7.39 และ 6.52 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 6.44 และ 6.35 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 11.90 และ 12.70 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 38.44 และ 39.00 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.32 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 15.15 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 11.61 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 23.20 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 51.53 ราก ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.22 และ 4.23 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 8.26 และ 11.86 เซนติเมตร

จำนวนใบเฉลี่ย 7.92 และ 8.08 ใบ ความยาวรากเฉลี่ย 14.33 และ 14.13 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 24.35 และ 23.38 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์การสะสมสาร indole-3-acetic acid (IAA) ในใบมันสำปะหลังตำแหน่งใบที่ 2 เมื่อมันสำปะหลังอายุ 10 – 16 วัน ที่ผ่านการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ก่อนปลูก เปรียบเทียบกับการแช่ด้วยสารสังเคราะห์ salicylic acid (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) หรือน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) พบว่า T4 ส่งผลให้ใบมันสำปะหลังมีการสะสม IAA ได้ดีที่สุดในทุกวันที่มีการวิเคราะห์ IAA เท่ากับ 12.11 15.77 14.79 14.65 13.91 11.55 และ 11.65 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด เมื่อมันสำปะหลังอายุ 10 – 16 วัน ตามลำดับ ขณะที่ T1 ใบมันสำปะหลังมีการสะสม IAA เมื่ออายุ 10 – 16 วัน เท่ากับ 4.58 5.12 4.76 5.23 3.99 4.11 และ 4.32 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และ T6 และ T7 ใบมันสำปะหลังมีการสะสม IAA เมื่ออายุ 10 – 16 วัน เท่ากับ 9.77 และ 5.64; 9.73 และ 4.78; 13.44 และ 5.69; 11.87 และ 7.84; 9.84 และ 7.88; 8.99 และ 8.89; และ 8.78 และ 9.32 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm (T4) มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทั้งด้านสรีระและชีวเคมีภายในลำต้นมันสำปะหลังไปในทิศทางเดียวกันผ่านการสะสม IAA สอดคล้องกับรายงานของวิลาวรรณ์ และดุสิต (2557) ว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิต IAA และ GA_3 ได้ปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose broth เท่ากับ 47.5 และ 54.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากการตรวจสอบด้วยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งภายใต้ห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิตและปลดปล่อย IAA และ GA_3 ที่มีประสิทธิภาพส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนราก แขนง ความสูงต้น และความยาวรากของต้นกล้าคะน้า ได้ทัดเทียมกับฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA และ GA_3 ส่งผลให้พืชมีการดูดสารอาหารและน้ำของพืชได้ดีขึ้น

Suja *et al.* (2014) รายงาน *Pseudomonas* sp. สามารถผลิต auxin 1.33 - 102 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสามารถผลิต IAA ได้ 1.33 - 63.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับเป็น elicitor กระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว รวมมีกลไกในการผลิตแอมโมเนียและละลายหินฟอสเฟตเป็นฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ 37 – 100 ppm ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีความสูงต้น 60 – 88 เซนติเมตร เส้นรอบวงของลำต้น 2.84 – 2.86 เซนติเมตร และน้ำหนักสดมวลรวม 91 – 112.33 กรัม/ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีความสูงต้น 52.67 เซนติเมตร เส้นรอบวงของลำต้น 2.11 เซนติเมตร และน้ำหนักสดมวลรวม 83.67 กรัม/ต้น นอกจากนี้การใช้เชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas*

sp. ร่วมในระบบการปลูกมันสำปะหลังยังส่งผลให้มีจำนวนใบมากกว่ากรรมวิธีควบคุมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) อีกด้วย

อภิวัฒน์ และคณะ (2558) รายงานว่าเมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดหรือสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ส่งผลให้กล้ายางอายุ 1 เดือน มีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 26.8 8.8 และ 0.26 เซนติเมตร หรือ 26.7 9.02 และ 0.3 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.05) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ เมื่อกล้ายางมีอายุ 2 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB และกรรมวิธีที่ 2 การคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดหรือสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ยังคงมีประสิทธิภาพส่งเสริมให้กล้ายางมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 40.6 13 และ 0.3 เซนติเมตร หรือ 40.2 13.1 และ 0.3 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ นอกจากนี้สารกรองของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ยังสามารถกระตุ้นให้ต้นกล้ายางมีการผลิตฮอร์โมน IAA ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยพบกิจกรรมของ IAA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเท่ากับ 3.54 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม หลังต้นกล้างอก 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (p = 0.05)

พันศักดิ์ และคณะ (2558) รายงานว่ายางชำถุงพันธุ์ RRIM600 ที่ได้รับการพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ความเข้มข้น 100 ppm ทำให้ต้นกล้ายางชำถุงมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นเพิ่มขึ้นอย่างแตกต่างสถิติ (p = 0.05) ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เท่ากับ 14.1 15.8 37.5 เปอร์เซ็นต์ และ 17.3 15.7 62.2 เปอร์เซ็นต์ หลังพ่นใบ 30 และ 60 วัน ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นสารพอลิแซคคาไรด์ยังสามารถกระตุ้นให้ยางมีการผลิตฮอร์โมน IAA และกระตุ้นภูมิต้านทานให้ผลิต guaiacol peroxidase (GPX) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกิจกรรมของ IAA และ GPX จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเท่ากับ 4.56 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม และ 4.25 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ตามลำดับ หลังพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (p=0.05)

นอกจากนี้ Jaleel *et al.* (2008) รายงานการใช้ *Pseudomonas fluorescens* เปรียบเทียบกับสารเร่งการเจริญเติบโตพืช ได้แก่ paclobutrazol (PBZ) และ gibberellic acid (GA_3) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแพงพวย *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. (Madagascar periwinkle, Family: Apocynaceae) ด้วยวิธีราดดินในวันที่ 38 53 68 และ 83 วันหลังปลูก ผลการทดลองพบว่า *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโต

ต้นแพงพวยได้ดีที่สุดในทุกตัวชี้วัดในทุกช่วงการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวราก พื้นที่ใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ($p = 0.05$) ขณะที่ PBZ มีผลทำให้ความสูงต้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วน GA_3 มีผลทำให้ความยาวรากและพื้นที่ใบลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แสดงให้เห็นข้อจำกัดและกลไกของสารเร่งการเจริญเติบโตสังเคราะห์และบ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้ *P. fluorescens* ร่วมในระบบการปลูกพืช แบคทีเรียชนิดนี้จะผลิต elicitor ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชอย่างสมดุลทั้งระบบ ไม่เกิดปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตพืช

ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง[1/]

Treatment[2/]	Number of shoot	Stem height (cm)	Number of leaf	Root length (cm)	Number of root
T1	2.30±1.059b	2.33±1.380b	2.11±1.97b	5.42±0.876b	21.80±0.235b
T2	3.20±1.686ab	4.04±2.062ab	3.00±1.054ab	8.51±1.324ab	39.61±0.525ab
T3	3.60±1.577ab	3.62±2.311ab	2.53±0.849ab	8.71±2.143ab	40.22±0.453ab
T4	3.82±1.232a	5.83±2.194a	3.32±0.823a	13.90±0.987a	49.53±1.110a
T5	3.31±1.159a	4.87±2.875a	2.91±1.197ab	12.90±1.321a	47.12±1.213a
T6	2.71±1.828ab	3.65±2.906ab	2.40±1.264ab	8.40±0.987ab	37.82±0.897ab
T7	3.00±1.247ab	4.42±1.801ab	2.90±1.100ab	8.50±1.231ab	39.54±2.412ab

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different at p = 0.05.

[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting.

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง[1/]

Treatment[2/]	Number of shoot	Stem height (cm)	Number of leaf	Root length (cm)	Number of root
T1	2.60±1.264b	3.40±2.512c	4.20±0.342b	9.23±0.634b	22.52±0.143b
T2	3.90±1.449ab	4.82±3.709ab	6.10±0.426ab	13.41±0.361ab	40.13±0.479ab
T3	3.81±1.988ab	6.37±4.313ab	6.31±0.561ab	12.81±0.139ab	40.61±0.411ab
T4	4.93±1.595a	10.23±3.092a	8.96±0.768a	18.42±0.523a	50.13±0.133a
T5	4.33±1.636ab	6.87±3.129b	6.22±2.431ab	18.33±1.211a	49.64±0.924a
T6	3.14±3.034ab	7.39±3.656b	6.44±2.438ab	11.90±0.221ab	38.44±0.632ab
T7	3.51±1.840ab	6.52±5.015ab	6.35±1.121ab	12.70±0.564ab	39.00±1.889ab

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

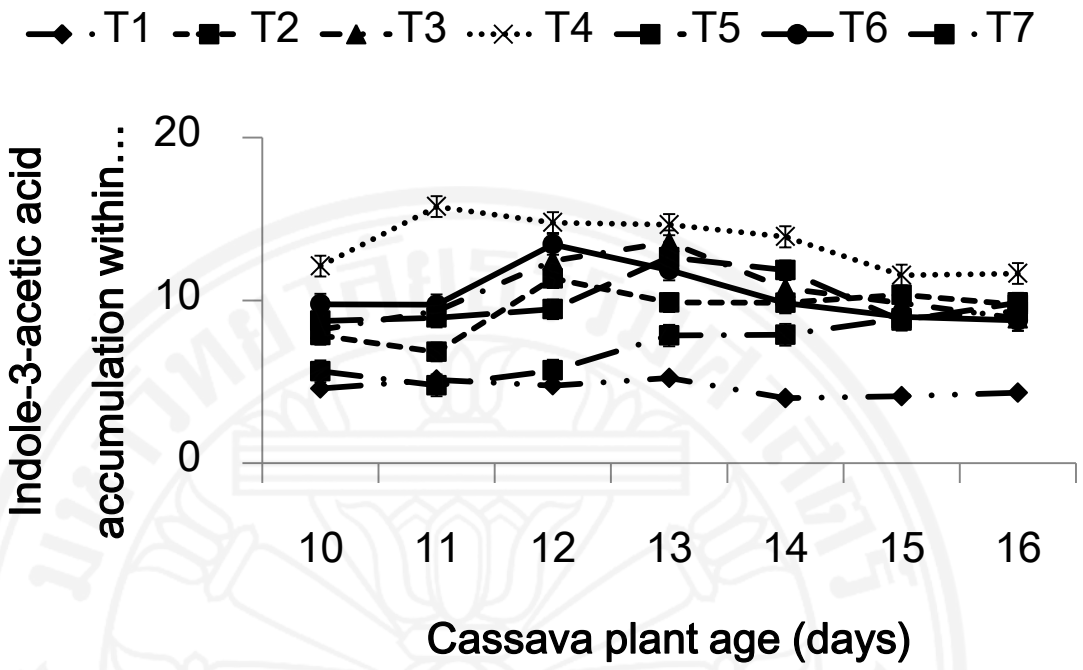
[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting.

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง[1/]

Treatment[2/]	Number of shoot	Stem height (cm)	Number of leaf	Root length (cm)	Number of root
T1	2.91±0.567b	7.06±6.215b	5.30±1.253b	18.71±2.564b	39.50±4.358b
T2	4.00±1.154ab	10.61±6.410ab	8.30±1.100ab	19.12±1.111b	41.13±4.213b
T3	4.21±1.873ab	10.66±5.297ab	8.71±0.811ab	19.24±8.690b	41.33±5.469b
T4	4.32±1.059a	15.15±4.613a	11.61±0.672a	23.20±3.754a	51.53±7.643a
T5	4.43±0.966a	10.80±4.642ab	11.73±1.421ab	18.82±5.764b	38.55±7.665b
T6	3.22±1.988ab	8.26±5.380ab	7.92±1.223ab	14.33±8.438c	24.35±7.676c
T7	4.23±1.032ab	11.86±5.993ab	8.08±1.33ab	14.13±6.798c	23.38±4.659c

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting.



ภาพที่ 4.7 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสม indole-3-acetic acid เปรียบเทียบกับ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1)

4.4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่ามันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

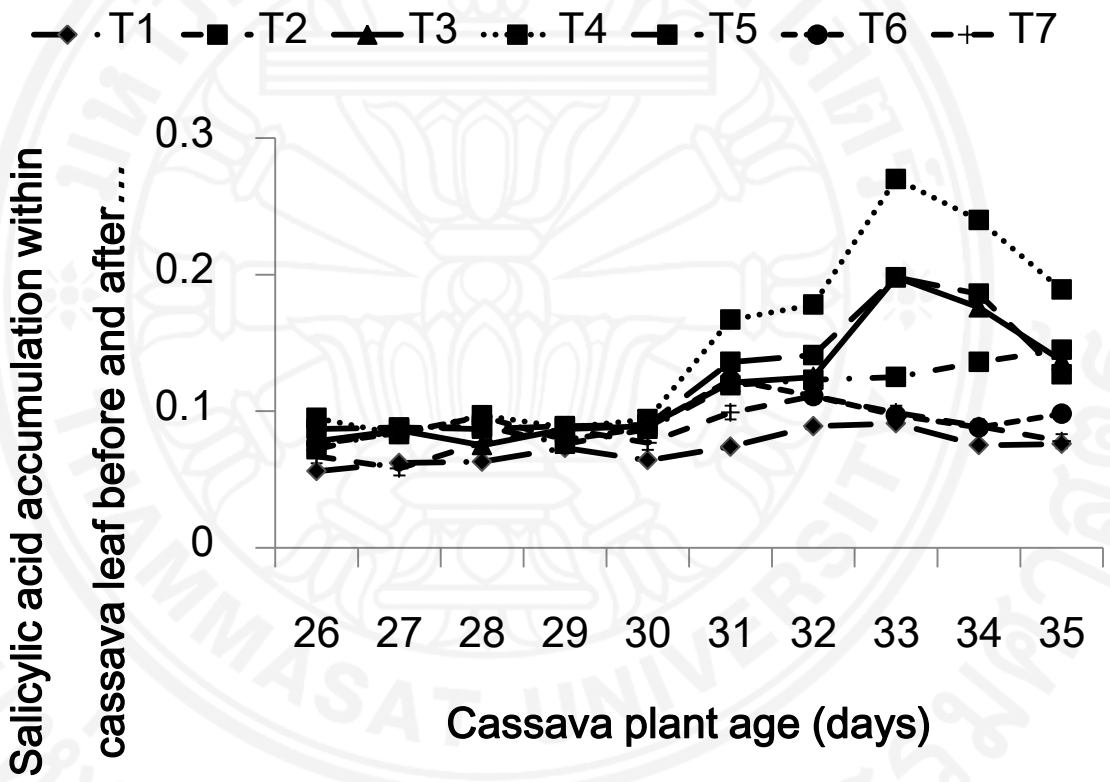
ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังมีภูมิต้านทานสะสมสาร salicylic acid (SA) สำหรับควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 mM (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) โดยการวิเคราะห์ปริมาณการสะสมสาร SA ในต้นมันสำปะหลังอายุ 26 – 35 วัน เป็นเวลา 10 วัน ซึ่งจะมีการปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 30 วัน พบว่า T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีการสะสม SA ได้ดีที่สุดในทุกวันตั้งแต่วันแรกที่มีการวิเคราะห์ SA รวมทั้งกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังมีการ

สะสม SA สูงสุดในวันที่ 3 หลังปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. (เมื่อมันสำปะหลังอายุ 33 วัน) เท่ากับ 0.095 0.083 0.097 0.088 0.094 0.137 0.127 0.27 0.190 และ 0.110 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ขณะที่ T1 ต้นมันสำปะหลังมีการสะสม SA เมื่ออายุ 26 – 35 วัน เท่ากับ 0.056 0.062 0.063 0.073 0.064 0.074 0.089 0.091 0.075 และ 0.076 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ และ T6 และ T7 ต้นมันสำปะหลังมีการสะสม SA เมื่ออายุ 26 – 35 วัน เท่ากับ 0.076 และ 0.067; 0.084 และ 0.058; 0.096 และ 0.077; 0.079 และ 0.087; 0.088 และ 0.076; 0.123 และ 0.099; 0.111 และ 0.111; 0.097 และ 0.099; 0.088 และ 0.089; และ 0.098 และ 0.078 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm (T4) มีผลในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสม SA เพื่อควบคุมโรครากหรือหัวเน่าจากเชื้อรา *Pythium* sp. ได้ดีที่สุด

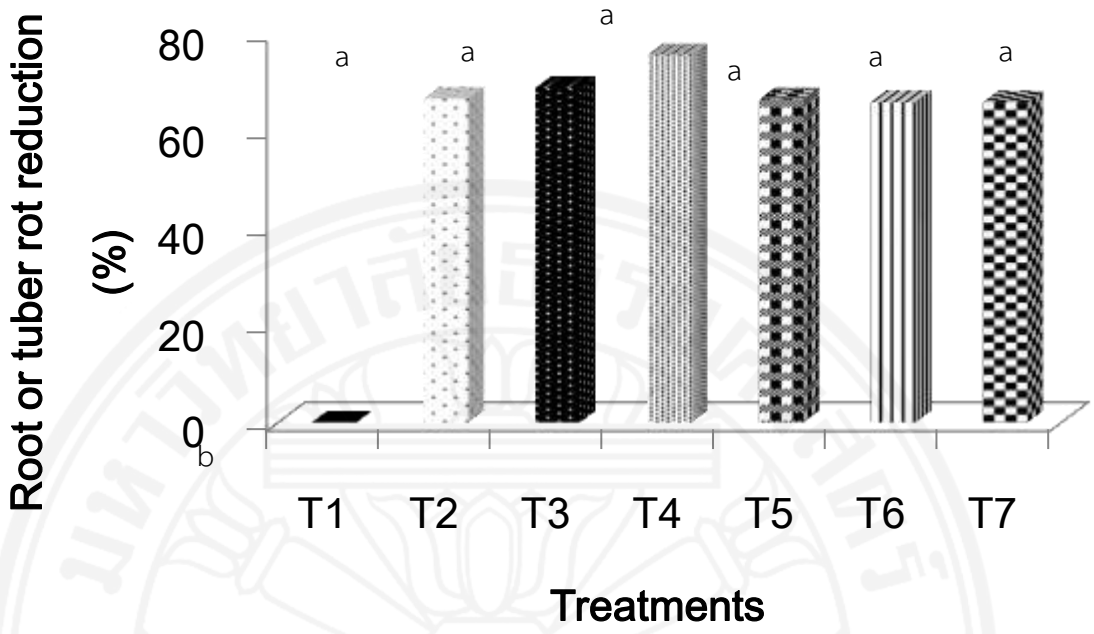
เมื่อพิจารณาผลการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm (T2 – T5) มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับสารสังเคราะห์ SA (T6) และสารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) ซึ่งสามารถลดความรุนแรงโรครากหรือหัวเน่าได้ 65.87 - 75.49 เปอร์เซ็นต์ หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นต้นมันสำปะหลังสะสม IAA ให้เจริญเติบโตรวดเร็วพ้นระยะการเข้าทำลายของเชื้อโรค รวมทั้งมีประสิทธิภาพกระตุ้นภูมิต้านทานให้ต้นมันสำปะหลังสะสม SA สำหรับควบคุมโรครากหรือหัวเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับรายงานของ Suja *et al.* (2014) ว่า *Pseudomonas* sp. บางสายพันธุ์มีกลไกในการผลิตสารประกอบ hydrogen cyanide (HCN) ซึ่งสามารถควบคุมโรคที่ระบบรากของต้นกล้าข้าวสาลีได้ (Flaishman *et al*., 1996) รวมทั้งสามารถควบคุมโรคที่ระบบรากที่เกิดจาก *Sclerotium rofsii* ด้วยกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะ (Suja *et al.*, 2014) อีกทั้ง วราภรณ์ และคณะ (2558ก; 2558ข) รายงานกลไกของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ซึ่งมียีนที่ควบคุมกับการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ 6 ชนิด คือ phenacin, 2,4-DAPG, pyoluteorin, pyluteorin, pyrrolnitrin และ herbicolin ตลอดจนมีกลไกการผลิต chitinase และ HCN สำหรับควบคุมโรคแผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum*

นลินา (2554) รายงานการคลุกเมล็ดผักคะน้าและพ่นใบต้นกล้า 3 ครั้ง ที่พืชอายุ 14 21 และ 28 วัน ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถชักนำให้คะน้าต้านทานต่อโรคเน่าดำ ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* และต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) โดยการกระตุ้นให้ต้นกล้าผักคะน้าผลิต superoxide dismutase :

SOD (33 μg^{-1} chatechol mg^{-1} protein) และเกิดการสะสม glucosinolate เพิ่มขึ้น (22.16 ไมโครโมล/กรัม) เมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพ พบว่าการคลุกเมล็ดผักคะน้าด้วยผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ SO007s ($1x10^6$ cfu/ml จำนวน 1 กรัม/เมล็ดหนัก 1 กก.) และพ่นใบ 3 ครั้ง ($1x10^8$ cfu/ml) เมื่อพืชอายุ 14 21 และ 28 วัน ยังคงประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นกล้าผักคะน้าผลิตสารต้านทานศัตรูพืชสะสมมากขึ้นในเรือนปลูกพืชทดลอง ส่งผลให้สามารถลดความรุนแรงโรคเน่าดำได้ 89 เปอร์เซ็นต์ และส่งผลให้หนอนใยผักตาย 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.8 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสม salicylic acid เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) โดยมีการปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลังเมื่ออายุ 30 วัน



ภาพที่ 4.9 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 7 วัน หลังปลูกเชื้อโรค เปรียบเทียบกับการใช้ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออน อัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1)

4.5 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในสภาพไร่

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังในสภาพไร่ เปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทน 160 กรัม ผสมมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1) โดยการแช่ท่อนพันธุ์และพ่นใบเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน ด้วยสารทดสอบชนิดและความเข้มข้นเดียวกันกับที่ใช้แช่ท่อนพันธุ์ พบว่าท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านการแช่สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์เข้มข้นเดียวกัน เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน (T4) ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 และ 3 เดือน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดทุกตัวชี้วัดแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนแทนอัตราแนะนำ (T7) แช่ท่อนพันธุ์และพ่นใบด้วยสารทดสอบแต่ละชนิด เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 1 2 และ 3 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5

โดย T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีความสูงต้นเฉลี่ย 28.30 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 15.27 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 52.52 ราก ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีความสูงต้นเฉลี่ย 22.27 และ 17.53 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 11.19 และ 10.74 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 42.55 และ 28.73 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน T4 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีความสูงต้นเฉลี่ย 76.00 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 41.85 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 49.84 ราก ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน มีความสูงต้นเฉลี่ย 68.44 และ 55.31 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 35.43 และ 28.43 เซนติเมตร และจำนวนรากเฉลี่ย 36.50 และ 25.90 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

เมื่อมันสำปะหลังอายุ 6 เดือน สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm (T4) ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีการเจริญเติบโตดีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) โดยมีน้ำหนักสดรากเฉลี่ย 2.30 กิโลกรัม เส้นผ่านศูนย์กลางรากเฉลี่ย 13.42 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 52.56 ราก และเปอร์เซ็นต์แป้ง 28.43 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความสูงต้น น้ำหนักสดต้น และความยาวรากพบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ขณะที่ T6 และ T7 ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีน้ำหนักสดรากเฉลี่ย 1.67 และ 1.56 กิโลกรัม เส้นผ่านศูนย์กลางรากเฉลี่ย 12.66 และ 11.72 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 46.80 และ 45.65 ราก และเปอร์เซ็นต์แป้ง 26.89 และ 27.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

เมื่อพิจารณาผลการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพไร่พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้น 100 200 500 และ 1,000 ppm (T2 – T5) มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับสารสังเคราะห์ SA (T6) และสารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) ซึ่งสามารถลดความรุนแรงโรครากหรือหัวเน่าในสภาพธรรมชาติได้ 70.66 – 77.89 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมันสำปะหลังและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพไร่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง รวมทั้ง Suja *et al.* (2014) รายงานว่า *Pseudomonas* sp. และแบคทีเรียในเขตรากพืชที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (plant growth promoting rhizosphere, PGPR) จะช่วยทำให้เมล็ดพืชงอกและมี

การเจริญเติบโตดีขึ้น ตลอดจนทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังช่วยปกป้องพืชจากศัตรูพืชทั้งโรคและแมลง (Kloepper *et al*., 2004; Kokalis Burelle *et al*., 2006; Herman *et al*., 2008; Minorsky, 2008) และ Marques *et al*. (2010) รายงานว่า HCN และแอมโมเนียที่ *Pseudomonas* sp. ผลิตขึ้น จะมีความสัมพันธ์กับการสะสมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับพืช (ข้าวโพด) โดยการสะสมไนโตรเจนจะส่งเสริมการยืดยาวของรากข้าวโพด และการสะสมฟอสฟอรัสจะส่งเสริมให้น้ำหนักมวลรวมของข้าวโพดเพิ่มขึ้น รวมทั้งส่งเสริมให้ต้นข้าวโพดมีความสูงยอดเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้มีรายงานของ Ashraf *et al.* (1999) ว่า *P. fluorescens* จะผลิตสารพอลิแซคคาไรด์และสารปฏิชีวนะ pyoluteorin, 2,4-di-acetylphloroglucinol, phenazine-1-carboxylic acid และ hydrogen cyanide (HCN) ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยตรงและทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (หัวไชเท้า) ทำให้หัวไชเท้ามีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและรากยาวขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากระบบ adhesion system และผลของการแพร่สารปฏิชีวนะรอบ ๆ รากพืชที่ถูกควบคุมโดย homoserine lactone ซึ่งเป็นระบบ autoinducer ที่จะถูกชักนำโดยสภาวะความเครียด ต่าง ๆ เช่น ethanol NaCl และอุณภูมิสูง รวมทั้ง นลินา (2554) รายงานว่าเมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพ พบว่าการคลุกเมล็ดผักคะน้าด้วยผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ SP007s ($1x10^6$ cfu/ml จำนวน 1 กรัม/เมล็ดหนัก 1 กก.) และพ่นใบ 3 ครั้ง ($1x10^8$ cfu/ml) เมื่อพืชอายุ 14 21 และ 28 วัน มีประสิทธิภาพในการสามารถลดความรุนแรงโรคเน่าดำ 96 เปอร์เซ็นต์ โรคใบจุดเกิดจาก *Alternaria brassicicola* 96 เปอร์เซ็นต์ โรคเน่าเละเกิดจาก *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 99 เปอร์เซ็นต์ และโรคราน้ำค้างเกิดจาก *Peronospora parasitica* 93 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งส่งผลให้ประชากรของหนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) และด้วงหมัดผัก (*Phyllotreta sinuata*) ในแปลงปลูกของเกษตรกรลดลง 66 45 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพไร่ [1/]

Treatment[2/]	Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	13.61±3.334c	10.48±3.245b	25.51±1.100c
T2	23.22±2.765b	10.41±4.567b	40.10±3.457b
T3	23.78±4.337b	11.91±3.243b	42.42±2.343b
T4	28.30±2.113a	15.27±1.112a	52.52±6.789a
T5	24.81±9.876b	10.62±2.1345b	39.87±2.591b
T6	22.27±3.445b	11.19±3.454b	42.55±3.583b
T7	17.53±8.776c	10.74±3.456b	28.73±3.461c

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting. All treatment was sprayed treatments after planting at 1, 2 and 3 months, respectively.

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพไร่[1/]

Treatment[2/]	Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	29.43±4.556e	26.79±4.365c	22.40±2.434c
T2	48.33±1.213d	33.33±2.549b	35.69±1.115b
T3	67.54±3.476b	37.00±3.547b	36.54±2.111b
T4	76.00±5.264a	41.85±7.665a	49.84±2.134a
T5	68.50±4.689b	38.60±3.609b	37.86±0.378b
T6	68.44±3.532b	35.43±608b	36.50±2.154b
T7	55.31±4.879c	28.43±683c	25.90±2.457c

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

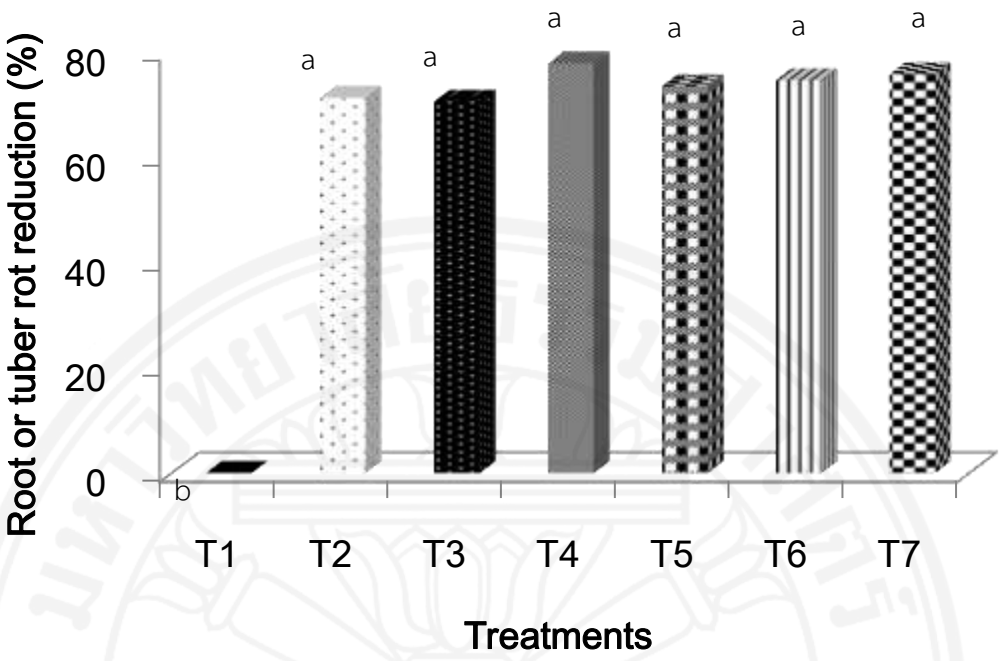
[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting. All treatment was sprayed treatments after planting at 1, 2 and 3 months, respectively.

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 6 เดือน ในสภาพไร่[1/]

Treatment[2/]	Stem height (m)	Stem weight (kg)	Root weight (kg)	Root length (cm)	Root circumference (cm)	Number of root	Percentage of starch
T1	2.40±0.096	0.87±0.107	1.11±0.526b	22.66±0.342	10.35±14.341b	22.72±7.621c	19.43±1.124b
T2	2.45±0.597	1.05±0.571	1.66±0.416ab	23.44±2.587	12.23±5.478ab	47.51±5.554b	27.89±4.691a
T3	3.02±0.471	1.43±0.700	1.80±0.392ab	30.44±5.471	12.07±13.894ab	51.47±7.898a	26.56±6.665a
T4	2.71±0.217	1.40±0.033	2.30±0.578a	28.11±3.981	13.43±8.695a	52.56±4.675a	28.43±1.211a
T5	2.59±0.426	1.05±0.450	2.04±0.68ab	27.00±1.111	12.40±10.703ab	47.86±7.667b	27.98±4.789a
T6	2.78±0.181	1.20±0.472	1.67±0.767ab	27.22±3.249	12.66±8.902ab	46.80b±8.887b	26.89±3.265a
T7	2.56±0.465	1.25±0.236	1.56±0.783ab	25.55±4.353	11.72±16.943ab	45.65±6.547b	27.54±2.473a

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

[2/] T1 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 100 mg/ml of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 200 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 500 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 1,000 mg/ml of SP007s polysaccharides for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting. All treatment was sprayed treatments after planting at 1, 2 and 3 months, respectively.



ภาพที่ 4.10 ประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s เข้มข้น 100 (T2) 200 (T3) 500 (T4) และ 1,000 (T5) ppm ในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าเมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพไร่ เปรียบเทียบกับการใช้ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T1)

4.6 พัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s อายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน (เก็บในสภาพอุณหภูมิห้อง) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ เปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) แคปแทน 160 กรัม ผสม มาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (T5) สารจับใบเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) โดยการแช่ท่อนพันธุ์นั้น พบว่าท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านการแช่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm อายุ 3 6 และ 9 เดือน (T1 – T3) ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีการเจริญเติบโตดีที่สุดทุกตัวชี้วัดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 mM (T4) หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลา

ไธออนแทนอัตราแนะนำ (T5) ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารจับใบ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm อายุ 3 6 และ 9 เดือน (T1 – T3) ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีค่าเฉลี่ยความยาวรากและจำนวนรากไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 mM (T4) หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนแทนอัตราแนะนำ (T5) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารจับใบ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7) ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ซึ่งทั้ง 2 ตัวชี้วัด จัดเป็นตัวชี้วัดหลักที่สำคัญต่อระบบการผลิตมันสำปะหลัง แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังได้ดีทัดเทียมกับการใช้สารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 mM หรือการใช้สารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนแทนอัตราแนะนำ

เมื่อพิจารณาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการและผลการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์มีประสิทธิภาพดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.05) กับสารสังเคราะห์ SA เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T6) และสารเคมีแคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T7) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* sp. 56.78 - 60.54 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.11 และลดความรุนแรงโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองได้ 70.59 – 78.96 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.12 แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมันสำปะหลังและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ซึ่งเคยมีรายงานคุณสมบัติต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิดนั้น การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นอีกหนึ่งงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังผ่านการสะสม IAA และ SA ภายในลำต้น เพื่อให้รอดพ้นต่อสภาวะความเครียดต่าง ๆ โดยเฉพาะจากการเข้าทำลายของ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่า ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและมีผลกระทบต่อการผลิตมันสำปะหลังในวงกว้าง สอดคล้องกับผลงานวิจัยของวราภรณ์ และคณะ (2558ก) รายงานว่า *P. fluorescens* SP007s ผลิตสารปฏิชีวนะ 6 ชนิด คือ phenacin, 2,4-DAPG, pyoluteorin, pyluteorin, pyrrolnitrin และ herbicolin รวมทั้งสามารถผลิต chitinase และ HCN ที่มีผลในการ

ควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจาก *Exserohilum turcicum* ได้ดี Ahemad และ Khan (2012) รายงานว่า *P. putida* สายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (plant-growth-promoting bacteria, PGPB) มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในธรรมชาติ กระตุ้นภูมิต้านทานพืชผ่านกลไกการผลิต salicylic acid, 2,3-dihydroxy benzoic acid, indole-3-acetic acid, exo-polysaccharides, hydrogen cyanate และ ammonia นอกจากนี้ Zhao *et al.* (2010) ยังรายงานการใช้สารสกัดบริสุทธิ์พอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100–400 มิลลิกรัม/ลิตร ของ *Bacillus cereus* เติมลงในอาหารสำหรับเร่งรากพืช ซึ่งในพอลิแซคคาไรด์ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนเชิงซ้อน 27 เปอร์เซ็นต์ ที่เป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญของรากพืช ส่งผลให้รากพืชมีการสะสมสาร tanshinone เพิ่มขึ้นประมาณ 7 เท่า (1.59 มิลลิกรัม/กรัม versus 0.19 มิลลิกรัม/กรัม) รวมทั้งส่งเสริมให้รากมีมวลเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตขึ้นโดย PGPB มีคุณสมบัติเป็น elicitor ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชดังเช่นเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ซึ่งเป็นผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพของการใช้ผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่[1/]

Treatment[2/]	Growth under greenhouse condition			Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	6.07±2.145a	12.59±0.529a	46.65±5.486a	35.02±11.798a	33.42±9.950a	36.54±2.357a
T2	6.84±2.542a	12.49±6.873a	4338±0.368ab	30.65±10.415ab	33.46±8.108a	37.63±8.766a
T3	6.34±3.713a	8.32±0.115ab	48.37±4.386a	29.18±5.949ab	32.74±4.946a	39.86±1.111a
T4	5.84±3.189ab	8.43±6.52ab	39.11±8.64ab	27.40±8.596ab	30.92±1.002a	35.69±7.631a
T5	4.04±3.409ab	8.32±5.721ab	36.35±8.113ab	26.61±10.719ab	30.70±10.075a	36.55±7.234a
T6	3.06±3.159b	4.53±0.111b	30.11±8.345b	25.35±6.938b	29.60±4.367ab	28.79±9.543ab
T7	3.13±0.176b	4.67±4.231b	29.08±4.698b	25.32±5.642b	28.79±5.863ab	27.98±2.223ab

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

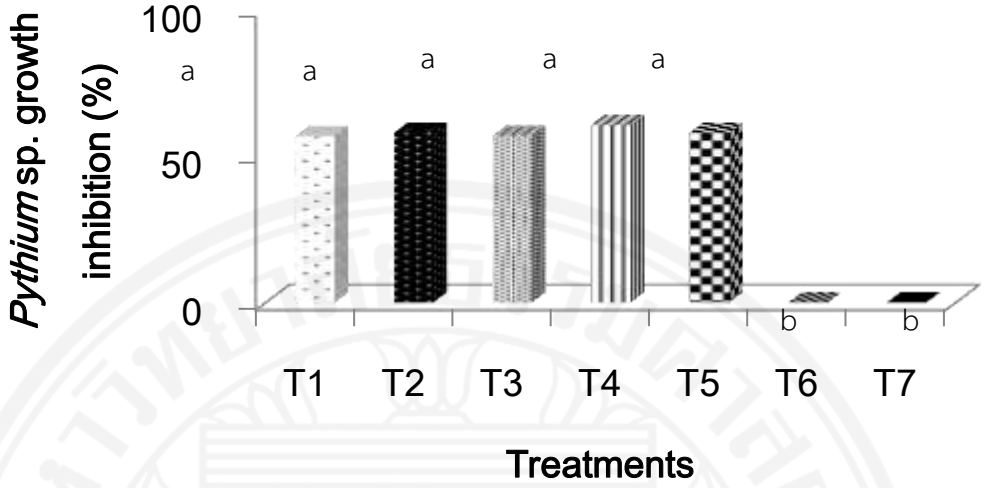
[2/] T1 = cassava stakes was dipped in 3 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 6 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 9 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 0.1% of surfactant for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting.

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพของการใช้ผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่[1/]

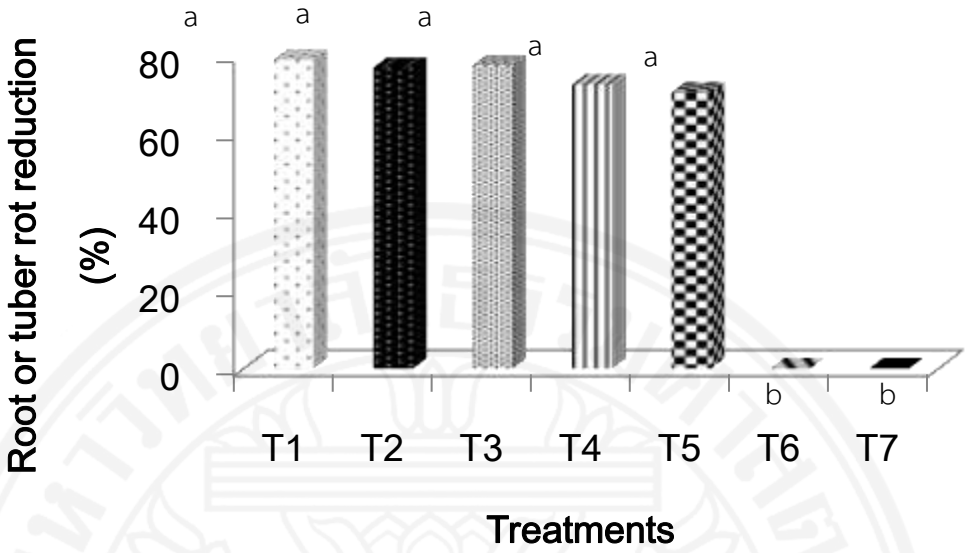
Treatment[2/]	Growth under greenhouse condition			Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	10.21±3.452	23.56±2.443a	36.54±2.135a	70.93±6.457a	41.83±8.674a	38.11±6.656a
T2	10.66±4.546	22.43±2.311a	39.86±4.511a	67.02±5.022ab	38.66±9.876a	39.65±2.113a
T3	9.65±3.528	23.45±7.692a	37.89±3.232a	66.63±10.145ab	37.00±2.291ab	42.44±3.987a
T4	8.26±5.012	20.87±3.444a	35.76±2.332a	64.43±6.426ab	35.33±4.358abc	40.98±335a
T5	8.51±5.289	21.33±2.111a	36.65±2.111a	63.25±12.027ab	28.00±3.122bc	40.33±2.578a
T6	6.94±4.923	14.32±3.567ab	25.78±4.345b	57.41±21.421b	26.70±1.111c	25.44±2.331b
T7	7.11±6.932	14.32±2.458ab	22.67±7.667b	55.11±19.498b	26.78±2.145c	23.57±4.334b

[1/] Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

[2/] T1 = cassava stakes was dipped in 3 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T2 = cassava stakes was dipped in 6 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T3 = cassava stakes was dipped in 9 months storage bioproduct for 15 minutes before planting, T4 = cassava stakes was dipped in 2.5 mM of salicylic acid for 15 minutes before planting, T5 = cassava stakes was dipped in 160 g of Captan mixed with 20 ml of Malathion in 20 L. of water for 15 minutes before planting, T6 = cassava stakes was dipped in 0.1% of surfactant for 15 minutes before planting, and T7 = cassava stakes was dipped in distilled water for 15 minutes before planting.



ภาพที่ 4.11 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s อายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T5) สารจับใบ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7)



ภาพที่ 4.12 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s อายุ 3 (T1) 6 (T2) และ 9 (T3) เดือน ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรครากหรือหัวเน่าในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (T4) แคปแทนผสมมาลาไธออนอัตราแนะนำ (T5) สารจับใบ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (T6) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (T7)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. สารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลัง โดยการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร indole-3-acetic acid (IAA) และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง โดยการกระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังสะสมสาร salicylic acid (SA) รวมทั้งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium* sp. ทำให้เส้นใยมีการเจริญผิดปกติ หดสั้น และบวมพอง

2. การแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังและพ่นใบเมื่อพืชอายุ 1 2 และ 3 เดือน ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ เข้มข้น 500 ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังได้ดีที่สุด อีกทั้งยังสามารถควบคุมโรครากหรือโคนเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3. ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s อายุ 3 6 และ 9 เดือน มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมันสำปะหลังและควบคุมโรครากหรือหัวเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพทัดเทียมสารสังเคราะห์ SA และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

4. ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถนำไปใช้แทนสารสังเคราะห์ SA และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม ผสมมาลาไธออน 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5. ทั้งนี้หากมีการศึกษาการใช้และวิธีการใช้สารพอลิแซคคาไรด์หรือผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารพอลิแซคคาไรด์ผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในหลายพื้นที่และหลายฤดูปลูกจะทำให้สร้างความมั่นใจแก่เกษตรกรและผู้ที่สนใจ ซึ่งมีแนวคิดลดหรือเลิกใช้สารเคมีได้เป็นอย่างดี

รายการอ้างอิง

หนังสือและบทความในหนังสือ

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2545). *เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลัง. เกษตรดีที่เหมาะสม ลำดับที่ 13*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

กลุ่มทำงานศึกษาและวิเคราะห์สินค้าเกษตรกรประเภทมันสำปะหลัง. (2554). *รายงานผลการศึกษาสินค้าเกษตรประเภทมันสำปะหลัง. ใน* รายงานผลการศึกษาสินค้าเกษตรประเภทมันสำปะหลัง สำนักงานคณะกรรมการกำกับการซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า.

ทวี เก่าศิร. (2549). *หน่วยที่ 10 ตอนที่ 10.1.1 ราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. เอกสารประกอบการเรียนการสอน ชุดวิชาศัตรูพืชเบื้องต้น (Introduction to Crop Pests) 93257 หน่วยที่ 8-15*. หน้า 10-8 – 10-22.

นิพนธ์ ทวีชัย. (2550). *การควบคุมโรคพืชโดยวิธีธรรมชาติ*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน. กรุงเทพมหานคร. 37 น.

Campbell, R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge : Cambridge University Press.

Handelsman, J. and Parke J.L. (1989). *Mechanism in biocontrol of soilborne plant pathogens*. *In* T. Krouge and Nester E.E. (eds). Plant–Microbe. pp 27-61.

Waterhouse, G.M. (1967). *Key to Pythium Pringsheim*. Mycol. Papers No. 109. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 15 p.

Waterhouse, G.M. (1968). *The Genus Pythium Pringsheim*. Diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. Mycol. Papers No. 110. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 71 p.

บทความวารสาร

กัญญารัตน์ ว่องวิทย์เดชา. (2553). *มันสำปะหลัง*. วารสารเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

จิระเดช แจ่มสว่าง วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา. (2534). *การตรวจและนับปริมาณเชื้อ Pythium aphanidermatum ในดินโดยวิธีเจือจางและการใช้เหยื่อล่อ*. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 25: 39 – 46.

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ ถนิมนันต์ เจนอักษร และพรหมมาศ คูหากาญจน์. (2554). *การยับยั้งการเจริญของเชื้อ Pythium myriotylum โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน*. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 16 (1): 22-31.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ ดุสิต อธินุวัฒน์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *Bacillus amyloliquefaciens ชักนำความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas axonopodis pv. glycines สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลืองด้วยการเพิ่มสารประกอบฟีนอลและเอนไซม์ฟีนิลอลานีนแอมโมเนียไลเอส*. หน้า 364 - 371. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2550. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ ดุสิต อธินุวัฒน์ ติยากร ฉัตรนภารัตน์ Gary Y. Yuen และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2551). *Extracellular Proteome และผลในการชักนำการเจริญเติบโตและกระตุ้นความต้านทานบนถั่วเหลืองของ plant growth promoting-bacteria, Bacillus amyloliquefaciens KPS46*. หน้า 242 - 252. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2551. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พันศักดิ์ จิตสว่าง วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2558). *สารพอลิแซคคาไรด์ของ Pseudomonas fluorescens ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยางชำถุงภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง*. Thai Journal of Science and Technology 4(2): 194-204.

วรรณภา เสนาดี กรกัญญา อักษรเนียม ดวงใจ เข็มแดง และอทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี. (2551). *ถอดรหัสมันสำปะหลังพืชทองคำใต้ดิน*. วารสารเคหะการเกษตร 7: 71-104.

วราภรณ์ บุญเกิด พัชรวิภา ใจจักรคำ สุพจน์ กาเซ็ม จีรนันท์ แหยมสูงเนิน ลาวัลย์ กลัดสุวรรณ์ มะลิดา ชูรินทร์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2558ก). *ผลของสารปฏิชีวนะต่อการยับยั้ง Exserohilum turcicum ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ SP007s*. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. 3 - 6 กุมภาพันธ์ 2558. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วราภรณ์ บุญเกิด พัชรวิภา ใจจักรคำ สุพจน์ กาเซ็ม จีรนันท์ แหยมสูงเนิน และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2558ข). *Pseudomonas fluorescense SP007s และ Trichoderma harzianum*

CB-Pin-01 ลดความรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด. ใน การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12. วันที่ 20 -22 ตุลาคม 2558. ดุสิต ไอร์แลนด์ รีสอร์ท. เชียงราย.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2557). *ฮอร์โมนพืชผลิตจาก Pseudomonas fluorescens SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์*. Thai Journal of Science and Technology 3(3): 196-205.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ Erwinia carotovora subsp. carotovora สาเหตุโรคเน่าเละของกะหล่ำดอก. ใน* การประชุมวิชาการ โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และทุน สกว.-บริษัท ปูนซีเมนต์นครหลวง จำกัด (มหาชน). 20-22 เมษายน 2550. โรงแรมจอมเทียน ปาล์ม บีช รีสอร์ท. ชลบุรี.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2551). *ความถี่และความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคสำคัญของกะหล่ำดอก*. หน้า 572 - 580. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ ศศิธร วุฒิวณิชย์ ชัยสิทธิ์ ปรีชา สุพจน์ กาเซ็ม ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2549). *การส่งเสริมการเจริญเติบโตและชักนำภูมิต้านทานโรคของกะหล่ำดอกและผักคะน้าด้วยเชื้อจุลินทรีย์และสารชีวภัณฑ์ธรรมชาติ.* หน้า 795-810. *ใน* เอกสารการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ สุพจน์ กาเซ็ม และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ร่วมกับสารชีวภัณฑ์ธรรมชาติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิต้านทานโรคของการผลิตกะหล่ำดอกในสภาพไร่*. หน้า. 357-363. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2550. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศิริพร หมาดหล้า ภาวดี เมธะคานนท์ มาลินี ประสิทธิ์ศิลป์ และ กัญญวิมว์ กีรติกร. (2549). *คุณสมบัติของโพลิเมอร์จากเชื้อราในประเทศไทยและศักยภาพในการเป็นวัสดุปิดแผล*. หน้า 74-78. *ใน* รายงานวิจัยในโครงการ BRT.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ชัยสิทธิ์ ปรีชา วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ สุพจน์ กาเซ็ม จารุวัฒน์ เถาธรรมพิทักษ์ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2549). *การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพด้วยแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญและความแข็งแรงของพืชและการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมการระบาดของโรคพืช. ใน* รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.

อภิวัฒน์ วงศ์จินดาคุณ วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2558). *ประสิทธิภาพสารกรองของ Pseudomonas fluorescens ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา*. Thai Journal of Science and Technology. 4(2): 155-164.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส. (2549). *สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Pythium สาเหตุโรคพืช*. ใน รายงานวิจัยกลุ่มงานวิทยาไมโคกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ วิชัย หฤทัยธนาสันติ์ งามผ่อง คงคาทิพย์ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. (2544). *การออกฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดพลูที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอล และเอทานอลผสมกรด.* หน้า 197-202. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

Ahemad, M. and Khan, M.S. (2012). *Effect of fungicides on plant promoting activities of phosphate solubilizing Pseudomonas putida isolated from mustard (Brassica compestris) rhizophere*. Chemosphere 86: 945-950.

Ashraf, M., Berge, O., Azam, F. and Heulin, T. (1999). *Bacterial exo-polysaccharides and productivity of the salt affected soils: I. Diversity of exo-polysaccharide producing bacteria from the rhizosphere of wheat (Triticum aestivum L.) grown in normal and saline Pakistani soils*. Pak. J. Biol. Sci. 2: 201-206.

Athinuwat, D., Thowthampitak, J., Kasem, S., Prathuangwong, S. and Choorin, M. (2013a). *Loss of CPSase activity in Pseudomonas fluorescens SP007s contributes to control efficacy against soybean bacterial pustule disease*. p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N., Prathuangwong, S. and Wongchindakhun, A. (2013b). *Biological analysis of Pseudomonas fluorescens induced systemic resistance in para rubber seedling against climate change*.

p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N., Prathuangwong, S. and Sottiwilaiphong, J. (2013c). *Enhanced biocontrol efficacy by bacterial antagonist mixtures against bacterial soft disease and flea beetle of Chinese kale*. p. 52. *In* 10th International Congress of Plant Pathology. August 25-30, 2013. Beijing, People's Republic of China.

Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensanteai, N. and Prathuangwong, S. (2014). *Efficiency of new plant growth promoting rhizobacteria on corn disease control*. African Journal of Microbiology Research 8(7): 710-717.

Budi, S.W., Arnould, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi- Pearson, V. and Gianinazzi, S. (2000). *Hydrolytic enzyme activity of Paenibacillus sp. strain B2 and effects of the antagonistic bacterium on cell integrity of two soil-borne pathogenic fungi*. Applied Soil Ecology 15: 191-199.

Buensanteai, N. and Athinuwat, D. (2012). *The antagonistic activity of Trichoderma virens strain TvSUT10 against cassava stem rot in Thailand*. African Journal of Biotechnology 11(84) : 14996-15001.

Buensanteai, N., Athinuwat, D., Chatnaparat, T., Yuen, G. Y. and Prathuangwong, S. (2008). *Extracellular proteome of plant growth promoting-bacteria, Bacillus amyloliquefaciens KPS46 and its effect on enhanced growth promotion and induced systemic resistance on soybean*. Kasetsart J. (Nat. sci.) 42(5): 13-26.

Buensanteai, N., Thumanu, K., Sompong, M., Athinuwat, D. and Prathuangwong, S. (2012). *The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, Bacillus subtilis CaSUT007*. African Journal of Microbiology Research 6(3) : 603-610.

Chatnaparat, T., Pupakdeepan, W. and Prathuangwong, S. (2009). *Bacterial antagonist mediated broad-spectrum resistance of maize against disease and water stress*. p. 36. *In* Proc. of the 1st International Conference on Corn and Sorghum

Research and the 34th National Corn and Sorghum Research Conference. April 8-10, 2009. Pattaya.

Cortes, M.E., Bonilla, J.C. and Simisterra, R.D. (2011). *Biofilm formation, control and novel strategies for eradication.* Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. 896-905.

Flaishman, M.A., Eyal, Z.A., Zilberstein, A., Voisard, C. and Hass, D. (1996). *Suppression of Septoria tritici blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide producing strains of Pseudomonas putida*. Molecular Plant Microbe Interact. 9: 642-645.

Fokunang, C.N., Dixon, A.G.O., Ikotun, T., Tombe, E.A., Akem, C.N. and Asiedu, R. (2001). *Anthracnose : an economic disease of cassava in Africa*. Pakistan Journal of Biologocal Sciences 4(7): 920-925.

Herman, M.A.B., Nault, B.A. and Smart, C.D. (2008). *Effects of plant growth promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York*. Crop Prot., 27: 996-1002.

Jaleel, C.A., Gopi, R., Zhao, C.-X., Azooz, M.M. and Panneerselvam, R. (2008). *Plant Growth Regulators and Fungicides Alters Growth Characteristics in Catharanthus roseus; Comparative Study*. Global Journal of Molecular Sciences 3 (2): 93-99.

Jatistienr, C. and Jatisatienr, A. (1999). *The fungicidal properties of extracts of clove (Eugenia caryophyllus Spreng.) and Sweet Flag (Acorus calamus Linn.)*. Acta Hort : 87-93.

Kasem, S., Athinuwat D. and Prathuangwong, S. (2009). *Potential of Bacillus amyloliquefaciens KPS46 formula for disease control of green soybean*. *In* Proc. of World Soybean Research Conference VIII. Aug. 10-15, 2009. Beijing.

Kloepper, J.W., Ryu, C.M. and Zhang, S. (2004). *Induced systemic resistance and promotion of plant growth by Bacillus spp*. Phytopathology 94: 1259-1266.

Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J.W. and Reddy, M.S. (2006). *Plant growth promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms*. Appl. Soil Ecol. 31: 91-100.

Larkin J.C., Hunsperger, J.F., Culley, D., Rubenstein, I. and Silflow, C.D. (1989). *The organization and expression of a maize ribosomal protein gene family*. Genes Dev. 3: 500-509.

Magnuson, T.S. (2011). *How the xap locus put electrical "Zap" in Geobacter sulfurreducens biofilms*. Journal of Bacteriology 193: 1021-1022.

Marques, A.P.G.C., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A.O.S.S. and Castro, P.M.L. (2010). *Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using Zea mays as indicator plant*. Soil Biol. Biochem. 42: 1229-1235.

Minorsky, P.V. (2008). *On the inside*. Plant Physiol. 146: 323-324.

Munk vald, G.P. and Marios, J.J. (1993). *Efficacy of nature epiphytes and colonizes of grapevine pruning wounds of biological control of Eutypa dieback*. Phytopathol. 83: 624 – 629.

Odeyemi, O.A. (2012). *Biofilm producing Vibrio species Isolated from Siloso Beach, Singapore : a preliminary study*. Webmed Central Microbiology. 3(1): 1-6.

Rendueles, Q. and Fhigo, J.-M. (2012). *Multispecies biofilms: How to avoid unfriendly neighbors*. FEMS Microbiology Reviews. 36(5): 972 - 989.

Nelson, E.B., Chao, W.L., Norton, J.M., Nash, G.T. and Harman, G.E. (1986). *Attachment of Enterobacter cloacae to hyphae of Pythium ultimun: possible role in biological control of Pythium preemergence damping-off*. Phytopathology 76: 327-335.

Pagliaccia, D., Ferrin, D. and Stanghellini, M.E. (2007). *Chemo-biological suppression of root-infecting zoosporic pathogens in recirculating hydroponic systems*. Plant Soil 299: 163-179.

Patel, S., Majumder, A., and Goyal, A. (2011). *Potentials of exopolysaccharide from lactic acid bacteria. Indian Journal of Microbiology*. 52(1): 3–12.

Phiriyaprasath, S., Prathuangwong, S., and Changkhan, N. (2002). *Effects of Termite Mound Bacteria on Disease Incidence and Growth of Soybean and Acacia*. p. 167. In Proc. of the Summary of the 1st International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases. Nov. 5-8, 2002. Chiang Mai.

Prathuangwong, S. (2009). *Biological control of brassicaceae diseases using the new bacterial antagonist strains*. A 5-Year Report AFRP Project 2004-2005. Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Prathuangwong, S. and Athinuwat, D. (2009). *Mixtures of Bacterial antagonist strains enhance biocontrol efficacy and reduce fungicide use of green soybean production*. In Proc. of World Soybean Research Conference VIII. Aug. 10-15, 2009. Beijing.

Prathuangwong, S. and Buensanteai, N. (2007). *Bacillus amyloliquefaciens induced systemic resistance against bacterial pustule pathogen with increased phenols, peroxides, and 1,3-β-glucanase in soybean plant*. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 42: 321-330.

Prathuangwong, S., Kasem, S., Thowthampitak, J. and Athinuwat, D. (2005). *Multiple plant response to bacterial mediated protection against various diseases*. J. ISSAAS 11(3, Supplement): 79-87.

Prathuangwong, S., Vudhivanich, S., Kasem, S., Preecha, C., Thowthampitak, J., Athinuwat, D., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Hiromitsu, N. and Suyama, K. (2008). *Developing biological control for vegetable diseases with microorganisms and natural compounds*. pp 106-110. A 5-Year Report AFRP Project 2004-2005. Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kasem, S., Athinuwat, D., Suyama, K., and Negishi, H. (2009a). *Potential for application time of Pseudomonas fluorescens SP007s and biofertilizer for alternaria leaf spot management of Chinese kale*. *In* Proc. of the ISSAAS International Congress. February 23 -27, 2009. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Thowthampitak, J., Thaveechai, N., Pitiyon, B., Pitiyon, V. and Uraichuen, S. (2009b). *Integrated pest management using bioproduct for Chinese kale production*. p. 104. *In* Proc. of the ISSAAS International Congress. February 23 -27, 2009. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chatnaparat, T., Pupakdeepan, W., Hemsanit, N., Kasem, S., Hirata, H. and Tsuyumu, S. (2010). *Combining Pseudomonas fluorescens SP007s product and manure mixed SP007s improves disease control and effects defense related*

enzymes of rice. p. 100. *In* Proc. of the 2nd Joint Seminar in Asian Core Program. Nov 19-21, 2010. Khon Kaen.

Prathuangwong, S., Chatnaparat, T., Chuaboon, W., Pupakdeepan, W., Sulaiman, A., and Hemsanit, N. (2011a). *Pseudomonas fluorescens SP007s reduces plant infection and increases γ-aminobutyric acid in seed infected by a complex pathogens of rice.* Phytopathology 101: S146.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Kladsuwan, L., Shoorin, M., and Kasem, S. (2011b). *Induction of disease and drought resistance in rice by Pseudomonas fluorescens SP007s*. p. 34. *In* Proc. of the International Conference on the Role of Agriculture and Natural Resources on Global Changes (ANGC2011). Nov 7-9, 2011. Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T. and Tsuyumu, S. 2012a. *Bioformulation utilizing Pseudomonas fluorescens SP007s for seed treatment and foliar spray of rice against dirty panicle disease*. p. 10-11. *In* Proc. of Postharvest Pest and Disease Management in Exporting Horticultural Crops. February 21-24, 2012. Bangkok.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., Kladsuwan, L., Choorin, M., and Kasem, S. (2012b). *Induction of disease and drought resistance in rice by Pseudomonas fluorescens SP007s*. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences Special Issue on Agriculture & Natural Resources 11(1): 45-56.

Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kladsuwan, L., Kasem, S., Hirata, H., and Tsuyumu, S. (2012c). *Metabolic responses implying mechanisms against disease and drought stress in multiple crops*. p. 141. *In* Proc. Asian Core Program (2008-2013) on Capacity Building and Development of Microbial Potential and Fermentation Technology towards New Era.

Prathuangwong, S., Athinuwat, D., Chuaboon, W., Chatnaparat, T., and Buensanteai, N. (2013). *Bioformulation Pseudomonas fluorescens SP007s against dirty panicle disease of rice*. African Journal of Microbiology Research 7(4): 5274-5283.

Pursky, D., Keen, N.T., Sims, J.J., and Midland, S.L. (1982). *Possible involvement of antifungal diene in the latecy of Colletotrichum gloeosporioides on unripe avocado fruits*. Phytopathology 72: 1578-1582.

Rehm, B.H.A. (2010). *Bacterial polymers: Biosynthesis, modifications and applications*. Nat. Rev. Microbiol. 8: 578-592.

Schneider-Mullar, S., Kurosaki, F., and Nishi, A. (1994). *Role of salicylic acid and intracellular Ca^{2+} in the induction of chitinase activity in carrot suspension culture*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 45: 101-109.

Suja, S.P., Hegde, V., Makeshkumar, T., and Anjanadevi, I.P. (2014). *Screening of Rhizobacteria Associated with Cassava for Plant Growth Promotion and Biocontrol Potential*. Journal of root Crops 40(1): 66-73.

Tribelli, P.M., Martino, C.D., Lopez, N.L. and Iustman, L.J.R. (2012). *Biofilm lifestyle enhances diesel bioremediation and biosurfactant production in the Antarctic polyhydroxyalkanoate producer Pseudomonas extremaustralis*. Biodegradation. 23(5): 645-51.

Zhao, J.-L, Zhou, L.-G. and Wu, J.-Y. (2010). *Promotion of Salvia miltiorrhiza hairy root growth and tanshinone production by polysaccharide–protein fractions of plant growth-promoting rhizobacterium Bacillus cereus*. Process Biochemictry 45(9): 1517-1522.

วิทยานิพนธ์

จันทร์จนา ตันสกุล. (2539). *การคัดเลือกเชื้อและการผลิตเอกโซพอลีแซคคาไรด์จากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นลินา เหมสนิท. (2554). *การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Pseudomonas fluorescens SP007s ชักนำให้คะน้าเกิดความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิยา เตชะติ. (2551). *การจำแนกชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบขีดข้าวโพด.* (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ. (2551). *ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ Erwinia carotovora subsp. carotovora สาเหตุโรคเน่าเละกะหล่ำดอก.* (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สื่ออิเล็กทรอนิกส์

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. *มันสำปะหลัง คำแนะนำพันธุ์มันให้เหมาะกับพื้นที่ กิจกรรมเครือข่ายเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง*. สืบค้นเมื่อวันที่ 23 มีนาคม 2552, จาก http://210.246.186.198/~cassava/index.php.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. *มันสำปะหลัง*. สืบค้นเมื่อวันที่ 27 มิถุนายน 2555, จาก http://www.oae.go.th.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายศตรรฆ ใจซื่อ
วันเดือนปีเกิด	28 กันยายน พ.ศ. 2530
ตำแหน่ง	-
ทุนการศึกษา	โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัย เพื่ออุตสาหกรรม พวอ. ระดับปริญญาโท สัญญาเลขที่ MSD56I0111

ผลงานทางวิชาการ

Satuck Chaisue, P. Poralokanon, W. Chuaboon, and D. Athinuwat. 2015. Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* polysaccharides enhance growth of cassava plant and control root and tuber rot. *In* Proc. of The 4th International Symposium on Engineering, Energy and Environments, November 8-10, 2015, Thammasat University, Pattaya Campus, Pattaya.

ศตรรฆ ใจซื่อ จิตติมา โสตถิวิไลพงศ์ วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และ ดุสิต อธินุวัฒน์. 2558. การคัดเลือกสารสกัดพืชเพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์อนุภาคนาโนสำหรับควบคุมโรคเน่าเละของผักกาดขาวปลี. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12, วันที่ 20 -22 ตุลาคม 2558, ดุสิต ไอร์แลนด์ รีสอร์ท, เชียงราย.

ประสบการณ์ทำงาน -

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
THAMMASAT UNIVERSITY
หอสมุดแห่งมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์