

การแยกและคัดเลือดยีสต์จากธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วโรดม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ธันวาคม 2559

การแยกและคัดเลือดยีสต์จากธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อรากล่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ธันวาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การแยกและคัดเลือกลีลาจากธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคเหี่ยวพืชาวเรียมในมะเขือเทศ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ธันวาคม 2559

เกียรติศักดิ์ รักษาพล. (2559). การแยกและคัดเลือกยีสต์จากธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อราก่อโรค

เหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ. ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม. (ชีววิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและคัดเลือกยีสต์ปฏิปักษ์จากธรรมชาติที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (*Fusarium wilt*) บนอาหารวุ้นแข็ง PDA และบนผลมะเขือเทศ จากการแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ สามารถแยกยีสต์ที่มีลักษณะของโคโลนี สี และลักษณะเซลล์ที่แตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ 160 ไอโซเลต จากนั้นคัดเลือกยีสต์ด้วยเทคนิค well test บนอาหารวุ้นแข็ง PDA พบว่า มียีสต์ปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ได้อย่างน้อยร้อยละ 50 ได้แก่ ไอโซเลต STPY0008 แยกได้จากเปลือกมะเขือเทศ ไอโซเลต STPY0012 และ STPY0150 แยกได้จากเปลือกแอปเปิ้ล เมื่อตรวจด้วยวิธีทางชีวเคมี ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมีสมบัติเหมือนกับยีสต์ *Candida krusei* จากนั้นทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ของยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลตบนอาหารวุ้นแข็ง PDA พบว่า ยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) ไม่แตกต่างจากสารแคปแทน ซึ่งเป็นตัวควบคุมผลบวก ($p \geq 0.05$) เมื่อนำยีสต์ปฏิปักษ์มาทดสอบผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ โดยเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดและในกระถางปลูก พบว่า เมล็ดมะเขือเทศมีร้อยละการงอกเท่ากับ 100 และมีความยาวของรากและลำต้นไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) จากการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศ พบว่า ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้ไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) และเมื่อทดสอบการลดร้อยละการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศ พบว่า ยีสต์ปฏิปักษ์สามารถลดร้อยละการเกิดโรคได้ร้อยละ 100 ไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) จึงสรุปได้ว่า ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลตให้ผลการยับยั้งการเจริญของราได้ดี และไม่ส่งผลกระทบต่ออาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ

ISOLATION AND SCREENING OF NATURAL YEAST ANTAGONISTS FOR THE CONTROL
OF *FUSARIUM* WILT IN TOMATO

AN ABSTRACT

BY

KIATISAK RAKSAPOLN



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Education Degree in Biology
at Srinakharinwirot University

December 2016

Kiatissak Raksapoln. (2016). *Isolation and Screening of Natural Yeast Antagonists for the Control of Fusarium Wilt in Tomatoes*. Master's thesis, M.Ed. (Biology). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assist. Prof.Somkiat Phornphisutthimas, Ph.D.

This research aimed at isolating and screening antagonistic yeasts from natural sources that can inhibit *Fusarium* wilt on PDA and tomatoes. By using morphology, the color of the colony, as well as cell morphology under the microscope, there were 160 isolates that could be isolated from fruit peels. The antagonistic yeasts were then selected by using a well test technique on PDA. There were only three isolates that could inhibit the growth of *F. oxysporum* at least 50% (i.e., STPY0008 isolated from sapodilla peels as well as STPY0012 and STPY0150 isolated from apple peels). According to the biochemical test, the three antagonistic yeast isolates had the same biochemical properties as *Candida krusei*. The inhibition of three antagonistic yeasts on the growth of *F. oxysporum* were then performed. The results showed that growth of *F. oxysporum* was completely inhibited (100%) as the captan, a positive control ($p \geq 0.05$). By testing the antagonistic yeasts on seed germination and tomato seedling on paper culture and soil, the tomato seed had 100% germination, as well as the root and the stem length had no difference from the positive control ($p \geq 0.05$). By investigating of the efficiency of antagonistic yeasts on the decrease of severity on the stem, all three antagonistic yeast isolates could decrease severity as the positive control ($p \geq 0.05$). Finally, by testing the decrease of percentage of incidence reduction on tomato fruits, all antagonistic yeasts could reduce the incidence of *Fusarium* wilt by 100% as positive control ($p \geq 0.05$). In conclusion, all three antagonistic yeasts had a good inhibition of the fungal growth with no effect on the seed germination and tomato growth.

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การแยกและคัดเลือดยีสต์จากธรรมชาติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ
ของ
เกียรติศักดิ์ รักษาพล

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
วันที่ เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ คณะกรรมการสอบปากเปล่า

..... ที่ปรึกษา ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ) (อาจารย์ ดร.อนิษฐาน ศรินวล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลืออย่างเต็มที่จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางในการวิจัย จัดหาอุปกรณ์ ตลอดจนการตรวจแก้ปริญญานิพนธ์ให้สำเร็จไปด้วยดี ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. อนิษฐาน ศรีนวล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณ ชาญชัย เชาว์วิวัฒน์ ที่ให้เกียรติเสียสละเวลามาเป็นกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ในครั้งนี้และช่วยแก้ไขปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคน ในสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับมิตรภาพที่ดีงาม และความมีน้ำใจเอื้อเฟื้อเผื่อแผ่ที่มีให้กันและกันตลอดระยะเวลาที่ทำปริญญานิพนธ์

ท้ายที่สุดข้าพเจ้าขอโน้มระลึกถึงพระคุณของบิดา มารดา ที่สนับสนุนและให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าตั้งแต่เริ่มทำปริญญานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

เกียรติศักดิ์ รักษาพล

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการศึกษาวิจัย.....	3
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย.....	3
สถานที่ทำการทดลอง.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
มะเขือเทศ.....	4
โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมจากรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	12
ยีสต์ และการควบคุมโรคพืช	15
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี ราและเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ.....	20
วิธีการทดลอง.....	21
การเตรียมราและสปอร์ของรา <i>Fusarium oxysporum</i>	21
การแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้.....	22
การเตรียมยีสต์และเซลล์ยีสต์แขวนลอย.....	22
การคัดเลือกยีสต์ปฏิบัติการในการยับยั้งการเจริญของรา <i>F. oxysporum</i> บนอาหาร PDA ด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์และสปอร์ราบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เจาะหลุมตรงกลาง (well test).....	22
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบัติการในการยับยั้งการเจริญของรา <i>F. oxysporum</i> บนอาหาร PDA.....	23
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบัติการต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศบนกระดาดเพาะเมล็ด.....	23

สารบัญ (ต่อ)

บทที่

หน้า

3 (ต่อ)

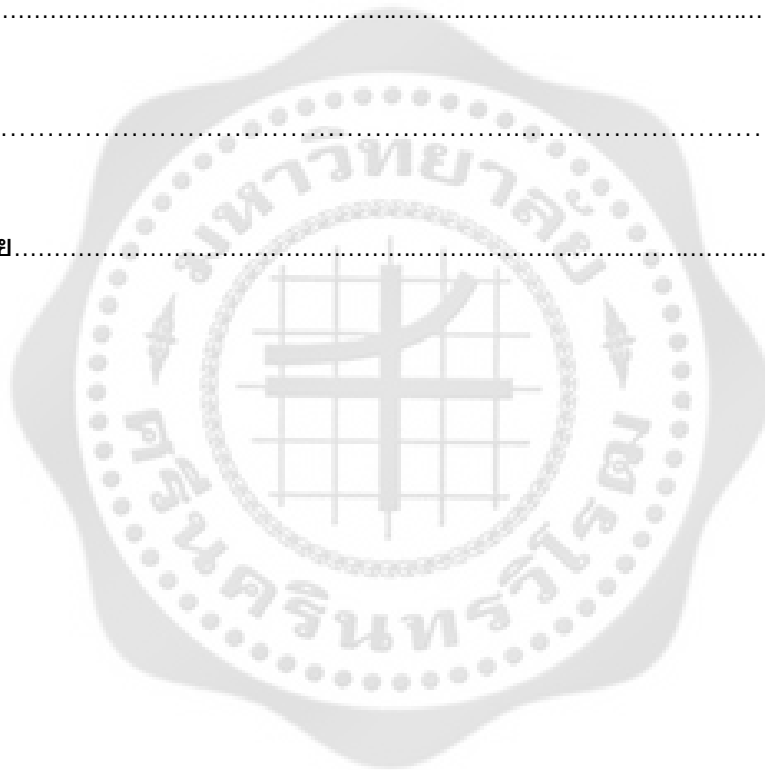
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อต้านกลิ่นมะเขือเทศหลังการงอก	
และการเจริญของต้นกล้ามะเขือเทศในกระถางปลูก.....	24
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของ	
โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ.....	24
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเกิด	
โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศ.....	25
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	25

4 ผลการทดลอง..... 26

การแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ และคัดเลือกยีสต์ปฏิบั้กซ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้ง	
การเจริญของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม	26
การระบุชนิดของยีสต์ปฏิบั้กซ์ด้วยสมบัติทางชีวเคมี.....	28
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเจริญของ	
<i>F. oxysporum</i> บนอาหารวุ้นแข็ง PDA.....	33
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ด	
และการ เจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ด	
ในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	35
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ด	
และการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ด	
ในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะในกระถางปลูก.....	39
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของ	
โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ.....	44
การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม	
บนผลมะเขือเทศ.....	53

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	56
สรุปผลการทดลอง.....	56
อภิปรายผลการทดลอง.....	57
ข้อเสนอแนะ.....	60
บรรณานุกรม.....	61
ภาคผนวก.....	67
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	69



บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ใช้ยีสต์ควบคุมราก่อโรคในพืชผลทางการเกษตร.....	19
2 ผลทดสอบทางชีวเคมีของยีสต์ 3 ไอโซเลต (STPY0008 STPY0012 และ STPY0150) เปรียบเทียบกับ <i>Candida krusei</i>	30
3 ค่าเฉลี่ยของร้อยละการยับยั้งการเจริญของราบนอาหารร่วนแข็ง PDA.....	34
4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	35
5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	36
6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	37
7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะในกระถางปลูก.....	40
8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะในกระถางปลูก.....	41
9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ <i>F. oxysporum</i> แล้วเพาะในกระถางปลูก.....	42
10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศ.....	45
11 จำนวนผลมะเขือเทศที่เกิดโรค และร้อยละของการเกิดโรคหลังใส่คอนิเดียราก่อโรค บ่มที่ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	54

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างของต้นมะเขือเทศ.....	5
2 โรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียในมะเขือเทศ.....	7
3 โรคใบไหม้ในมะเขือเทศ.....	8
4 โรคใบจุดของมะเขือเทศ (leaf spot).....	9
5 โรคเหี่ยวที่เกิดจากรา <i>Sclerotium</i>	10
6 โรคใบจุดสีน้ำตาล.....	11
7 อาการโรคเหี่ยวที่เกิดจาก <i>Fusarium</i>	12
8 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	13
9 วงจรการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> .	15
10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา <i>F. oxysporum</i> บนอาหารวุ้นแข็ง PDA ด้วยวิธี well test ที่เติมยีสต์แตกต่างกัน.....	28
11 ลักษณะโคโลนีรา <i>F. oxysporum</i> ที่เจริญบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เติมยีสต์ปฏิบัฏ์แตกต่างกัน.....	34
12 ผลของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ หลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	38
13 ผลของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นของต้นกล้า มะเขือเทศหลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันบนกระดาษเพาะเมล็ด.....	39
14 ผลของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ หลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันในกระถางปลูก.....	43
15 ผลของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นของต้นกล้า มะเขือเทศหลังการเพาะเป็นเวลา 7 วันในกระถางปลูก.....	44
16 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวพืชาวรียมบนต้นมะเขือเทศ.....	47
17 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวพืชาวรียมบนต้นมะเขือเทศหลังใส่น้ำกลั่น (ตัวควบคุมให้ผลลบ) และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคที่รอยแผล.....	48

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟ้าขาเรื้อรมบนต้นมะเขือเทศหลังใส่แคปแทน (ตัวควบคุมให้ผลบวก)และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผล.....	49
19 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลลียีสต์ปฏิปักษ์ STPY0008 และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผล.....	50
20 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลลียีสต์ปฏิปักษ์ STPY0012 และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผล.....	51
21 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลลียีสต์ปฏิปักษ์ STPY0150 และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผล.....	52
22 ลำต้นมะเขือเทศตัดตามยาวหลังใส่เซลลียีสต์ปฏิปักษ์ และคอนิเดียแขวนลอยของ ราก่อโรคบนรอยแผล เป็นเวลา 28 วัน.....	53
23 ผลมะเขือเทศหลังใส่เซลลียีสต์ปฏิปักษ์ และคอนิเดียราบนรอยแผล บ่มที่ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	55

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นสินค้าเกษตรที่ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตและการส่งออก สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนดมาตรฐานทั้งด้านคุณภาพและความปลอดภัย เพื่อคุ้มครองความปลอดภัยของผู้บริโภค รวมทั้งส่งเสริมการส่งออก สร้างความเชื่อถือให้เป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและการค้าระหว่างประเทศ (พระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร. 2550: 1-19) สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ รายงานภาวะการผลิตมะเขือเทศประจำปี 2558 ว่ามีพื้นที่การปลูกมะเขือเทศ 102,400 ไร่ ผลผลิตรวม 102,406 ตัน และมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้คิดเป็น 1,583 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558: 61) มะเขือเทศจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างยิ่งของประเทศไทย

แม้มะเขือเทศจะเป็นพืชที่ได้รับความนิยมในการปลูกจนเป็นพืชเศรษฐกิจของไทย แต่เกษตรกรส่วนใหญ่ยังประสบปัญหาที่ทำให้ผลผลิตลดลง เนื่องจากเกษตรกรยังขาดความรู้ ความเข้าใจในการจัดการการผลิต ตั้งแต่ขั้นตอนการปลูก การปฏิบัติดูแลรักษา การจัดการโรค แมลง และศัตรูพืช (ฝากจิต ลาภจิตร. 2557: 894-898) และโรคที่สำคัญในมะเขือเทศชนิดหนึ่งได้แก่โรคเหี่ยวจากรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกการควบคุมราดังกล่าวด้วยสารเคมี ดังจะเห็นได้จากการรายงานผลการสำรวจสารพิษตกค้างในผักผลไม้ ครั้งที่ 2/2559 ของเครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Thai- PAN) (2559: 1-17) พบว่า ผักและผลไม้ทุกชนิดที่สุ่มตรวจมีสารพิษตกค้างเกินค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) และพบสารพิษตกค้างทั้งหมด 68 ชนิด ซึ่งมี 6 ชนิดเป็นสารพิษต้องห้ามเนื่องจากเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 4 ปะปนอยู่ด้วย ส่วนในมะเขือเทศนั้นพบสารพิษตกค้างถึง 13 ชนิด สารเคมีเหล่านั้นส่วนใหญ่มีผลต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภคทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง อาจมีผลกระทบต่อระบบประสาท ระบบพันธุกรรม และการเกิดมะเร็ง การลดใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญ (แสงโสม ศิริพานิช. 2556: 689-692) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการอื่นที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ซึ่งเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยและลดต้นทุนในการผลิต การควบคุมโดยชีววิธีเป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสม เนื่องจากจุลินทรีย์

หลายชนิดในธรรมชาติ สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อจุลินทรีย์ก่อโรคพืช เช่น รา แบคทีเรีย ไวรัส (นิพนธ์ ทวีชัย. 2553: 129-159) ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญหลายด้าน ทั้งด้าน อุตสาหกรรม การแพทย์ และสิ่งแวดล้อม การเลือกยีสต์มาใช้ควบคุมโรคพืชจึงเป็นที่ยอมรับว่า ไม่ทำให้เกิดอันตรายแก่เกษตรกรและผู้บริโภค นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิดมาทำลาย เชื้อก่อโรคได้ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และสามารถแพร่กระจายครอบคลุมผิว ส่วนต่าง ๆ ของพืชได้เร็ว จึงทำให้เชื้อก่อโรคถูกทำลายเนื้อเยื่อพืชได้น้อยลง (อรุณ ชาญชัยเชาว์ วิวัฒน์. 2553: 46-53) มีการวิจัยแยกและคัดเลือกยีสต์ปฏิปักษ์จากธรรมชาติ มาทดสอบการยับยั้ง การเจริญของราก่อโรคในพืชตระกูลส้มชนิด *Penicillium digitatum* ได้เป็นผลสำเร็จ (Abraham; et al. 2010: 32-38) นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ *Issatchenkia orientalis* ที่แยกได้จากผลองุ่นสามารถ ยับยั้งการติดเชื้อจากรา *Aspergillus carbonarius* และ *Aspergillus niger* บนผลองุ่นได้ (Bleve; et al. 2006: 204-209)

การควบคุมโดยชีววิธี โดยการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์จากธรรมชาติเพื่อควบคุมการเจริญและลดระดับ ความรุนแรงโรคจากรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ จึง เป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ และนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกัน กำจัด และควบคุมโรคพืช เพื่อหลีกเลี่ยง ผลข้างเคียงจากสารเคมี เป็นการลดต้นทุนการผลิตในการนำเข้าสารเคมี และช่วยลดการเสียเปรียบ การค้าด้วย

จากความสำคัญและปัญหาดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นที่มาของการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญ ของรา *Fusarium oxysporum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ด้วยยีสต์ปฏิปักษ์ที่ แยกได้จากเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ และนำมาทดสอบกับเมล็ด ผลและต้นมะเขือเทศในระดับ ห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในระดับแปลงปลูกต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ คัดเลือกยีสต์ปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญ ของรา *Fusarium oxysporum* ได้มากกว่าร้อยละ 50 และระบุชนิดพันธุ์ของยีสต์ปฏิปักษ์ด้วยสมบัติ ทางชีวเคมี

2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบักระในการยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบักระต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ เมื่อให้รา *Fusarium oxysporum* บนกระดาษเพาะเมล็ด
4. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบักระต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ เมื่อให้รา *Fusarium oxysporum* ในกระถางปลูก
5. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบักระต่อความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ
6. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบักระต่อความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศ

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญรา *F. oxysporum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar การงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศบนกระดาษเพาะเมล็ด และในกระถางปลูกเมื่อแช่เมล็ดด้วยรา *F. oxysporum* การยับยั้งความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้น และบนผลมะเขือเทศ ด้วยยีสต์ปฏิบักระที่แยกได้จากเปลือกผลไม้ และระบุชนิดพันธุ์ของยีสต์ปฏิบักระด้วยสมบัติทางชีวเคมี

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ระยะเวลาที่ใช้ในการทำวิจัย เริ่มตั้งแต่มิถุนายน 2556 ถึง กันยายน 2559

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ อาคาร 15 ห้อง 321 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้เป็น

1. มะเขือเทศ
2. โรคเหี่ยวพืชมะเขือเทศ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*
3. ยีสต์ และการควบคุมโรคพืช

1. มะเขือเทศ

มะเขือเทศ เป็นพืชวงศ์ Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. (เพียร์ อินทสุวรรณ. 2552: 159) มะเขือเทศที่ปลูกกันในปัจจุบันมีต้นตอมาจากพันธุ์มะเขือเทศป่าทางตอนกลางของทวีปอเมริกาและภูเขาแอนดีสในอเมริกาใต้ แต่มะเขือเทศที่ปลูกเพื่อการบริโภคนั้นมีถิ่นกำเนิดจากเม็กซิโก ปัจจุบันมีการปลูกกระจายออกไปทั่วโลกทั้งในทวีปยุโรป แอฟริกา และเอเชีย ในประเทศไทยมีการปลูกมะเขือเทศเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะในภาคเหนือและภาคอีสาน เนื่องจากมีสภาพอากาศเหมาะสมสำหรับปลูกมะเขือเทศ (มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2538: 11) หากแบ่งตามลักษณะการใช้ประโยชน์สามารถแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ที่ใช้รับประทานสด เช่น พันธุ์สีดา พันธุ์มาไกลบ พันธุ์สีดาห้านฉัตร พันธุ์สีดา มก. และพันธุ์แอล 22 และสายพันธุ์ที่ส่งโรงงาน เช่น พันธุ์ มข 0-2 พันธุ์คิงคอง และพันธุ์ซานมาซาโน x คาลเจ (สมพงษ์ บัวแย้ม. 2558: 115-116)

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ (จานุรักษ์ ขนบดี. 2541: 71-73; นิพนธ์ ไชยมงคล. 2526: 1-3; มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2538: 1-10)

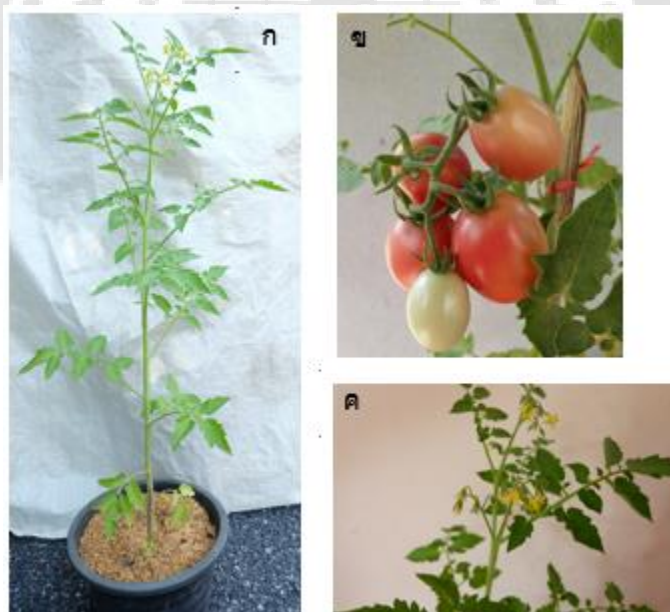
มะเขือเทศมีลำต้นและระบบกิ่งก้านที่แตกแขนงแบบสลับเป็นจำนวนมาก มีขนอ่อนปกคลุม ลำต้นตั้งตรงในช่วงแรกของการเจริญ แต่เมื่อต้นสูง 1-2 ฟุตจะทอดยาวในแนวราบ ในบางสายพันธุ์มีลำต้นสั้น เรียกว่า แบบไม่ทอดยาว (determinate type) ประกอบด้วยช่อดอกข้าง (axillary raceme) และช่อดอกปลายยอด (terminal raceme) ช่อดอกข้างจะออกดอกข้อ (node) เว้นข้อ ทรงพุ่มแน่นไม่ต้องขึ้นค้าง ให้ผลผลิตเร็วและอายุสั้น บางสายพันธุ์มีลำต้นทอดยาว เรียกว่า แบบทอดยาว (indeterminate type) ประกอบด้วยช่อดอกข้างเท่านั้น ส่วนปลายยอดยังเจริญทางกิ่งก้านและใบ ช่อดอกออกข้อเว้นสองข้อหรือเว้นมากกว่านี้ พวกนี้ทรงพุ่มหลวมต้นสูงต้องขึ้นค้าง ให้ผลผลิตช้าและช่วงการเก็บเกี่ยวผลยาว

ใบมะเขือเทศเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ (odd-pinnately compound leaves) แต่ ละสายพันธุ์มีลักษณะใบแตกต่างกัน มีทั้งใบยาวและแคบ ใบย่อยกว้าง และขอบใบหยัก ใบมีขนอ่อน และมีขนต่อมสะสมสารระเหย

ระบบรากของมะเขือเทศเป็นระบบรากแก้วเจริญเติบโตได้เร็ว แข็งแรง ระหว่างย้ายปลูก รากแก้วมักขาด ทำให้เกิดรากแขนง และรากพิเศษ ในบางภาวะสามารถสร้างรากแขนงที่ลำต้นเพื่อ ช่วยดูดอาหารไปเลี้ยง ระบบรากมีความกว้าง 4-5 ฟุต และหยั่งรากลึก 2-3 ฟุต

มะเขือเทศออกดอกเป็นช่อดอกแบบกระจุก (raceme) ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (complete flower) ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีเหลือง 5-6 กลีบ เกสรเพศผู้รวมกันเป็น หลอด (tube) ครอบเกสรเพศเมีย ส่วนใหญ่ผสมพันธุ์แบบผสมตัวเอง (self-pollination)

ผลมะเขือเทศมีเนื้อ และมีหนึ่งถึงหลายเมล็ด (berry) ประกอบด้วยช่องรังไข่ (locule) 2-25 ช่อง ผลมีลักษณะอวบ สด มีรูปร่าง ขนาด และสีแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ ผิวไม่มีสี ส่วนที่ มองเห็นเป็นสีต่าง ๆ เกิดจากสีของเนื้อมะเขือเทศ



ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของต้นมะเขือเทศ (ก) ต้นมะเขือเทศ (ข) ผลมะเขือเทศ (ค) ดอกและใบ มะเขือเทศ

1.2 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการปลูกมะเขือเทศ

สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ช่วงแสง คาร์บอนไดออกไซด์ การหมุนเวียนของอากาศ มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของกิ่ง ใบ ลำต้น การเจริญของดอก การติดผล และการพัฒนาคุณภาพของผล มะเขือเทศอยู่ในกลุ่มที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (thermoperiodism) การปลูกมะเขือเทศในอุณหภูมิที่แตกต่างกันจะให้ผลผลิต และคุณภาพที่ต่างกัน โดยผลผลิตจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เมล็ดงอกที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25°C ในระยะต้นกล้าเจริญเติบโตในเวลากลางวันที่อุณหภูมิ $18-24^{\circ}\text{C}$ และกลางคืนที่ $16-18^{\circ}\text{C}$ ต้นมะเขือเทศเจริญเติบโตในช่วง $20-30^{\circ}\text{C}$ และอุณหภูมิที่เหมาะสมของการติดผลช่วงกลางวันคือ 26.5°C และช่วงกลางคืนคือ $15-20^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้โรคเข้าทำลายได้ง่าย สำหรับการติดและเจริญของผลอยู่ระหว่าง 60-70% มะเขือเทศเจริญได้ดีในดินที่ร่วนซุย มีหน้าดินลึก ระบายน้ำได้ดี และมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.5% มีสภาพเป็นกลาง (นิพนธ์ ไชยมงคล. 2526: 3-10)

1.3 โรคที่สำคัญของมะเขือเทศ (จามรวัช ชนบท. 2541: 85; มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2538: 37-38; ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537: 86-95; สมศิริ แสงโชติ. 2532: 5-49)

การปลูกมะเขือเทศเป็นอาชีพทางเกษตรที่ให้ผลตอบแทนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการปลูกพืชผักชนิดอื่น ๆ ทั่วไป แต่มีอุปสรรคค่อนข้างมากโดยเฉพาะในด้านโรคต่าง ๆ เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่อ่อนแอและง่ายต่อการเข้าทำลายจากเชื้อก่อโรคในพืชต่าง ๆ ทั้งแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา โรคที่สำคัญของมะเขือเทศมีดังนี้

1.3.1 โรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย (bacterial wilt)

เกิดจากแบคทีเรียชนิด *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith เมื่อแบคทีเรียเข้าทำลาย พืชจะมีอาการเหี่ยวเฉาทั้งต้นในเวลากลางวัน และกลับฟื้นขึ้นในเวลากลางคืนแสดงอาการ 2-3 วัน จนเหี่ยวตายอย่างถาวร ส่วนใหญ่พบอาการรากเน่า แต่ไม่มีอาการเหลืองของใบที่อยู่ตอนล่าง ๆ มาก่อน หากตัดลำต้นในแนวขวางจะพบเมือกเหนียวของแบคทีเรียสีขาวขุ่น (ooze) ชีมที่รอยตัด และเมื่อจุ่มในน้ำสะอาดเมือกสีขาวขุ่นนั้นจะชีมออกมาในน้ำเป็นสายยาว การป้องกันนอกจากจะเลือกพื้นที่ปลูกที่ไม่เคยมีประวัติการเกิดโรคมามาก่อนแล้ว การเติมกำมะถันลงในดินจะช่วยกำจัดแบคทีเรียได้ เนื่องจากแบคทีเรียนี้ค่อนข้างไวต่อกำมะถัน แต่หลังใส่กำมะถันต้องปรับดินให้เป็นกลางหรือเบสเล็กน้อยด้วยปูนขาวเพื่อเหมาะสมกับการเจริญของต้นมะเขือเทศ



ภาพประกอบ 2 โรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียในมะเขือเทศ

ที่มา: โรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย (Bacterial wilt) สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก http://chaleeprom.com/plantdisease/doku.php/user/ant121/ant121-job_scab_06

1.3.2 โรคใบไหม้ (late blight)

เกิดจากแบคทีเรีย *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. ความชื้น อุณหภูมิ และแสงแดดเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดการระบาดและสร้างความเสียหายของโรคนี้เนื่องจากเชื้อต่อการกระจายและงอกของสปอร์ อาการของโรคเกิดได้ทุกส่วนของต้นพืช และในทุกระยะของการเจริญเติบโต อาการเริ่มแรกพบจุดช้ำบนใบเหมือนถูกน้ำร้อนลวก พลิกดูใต้ใบจะพบผงสปอร์สีขาว ต่อมาแผลจะขยายออกและแห้งเป็นสีน้ำตาล แผลมีลักษณะเป็นวงซ้อนกัน เมื่อหลาย ๆ รอยแผลขยายมารวมกันจะทำให้เกิดใบไหม้ได้ สามารถเกิดโรคได้กับผลที่เริ่มสุกได้ การควบคุมโรคนี้เน้นการป้องกัน การเกิดโรค และกำจัดต้นและใบแห้งก่อนโรคจะระบาด มีผู้แนะนำให้ใช้สารเคมีหลายชนิด เช่น อาลีเอต (aliette) มาเนบ (maneb) แมนโคเซบ (mancozeb) และพวกที่มีทองแดงผสมอยู่ เช่น คูปราวิท (cupravit) หรือคอปปีไซด์ (coppicide) และบอร์โดมิกซ์เจอร์ (bordeaux mixture)



ภาพประกอบ 3 โรคใบไหม้ในมะเขือเทศ

ที่มา: โรคใบไหม้ (late blight) สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก
<http://thescientistgardener.blogspot.com/2009/07/outbreak-of-potato-famine-pathogen.html>

1.3.3 โรคใบจุดของมะเขือเทศ (Leaf spot)

เกิดจากรา *Cercospora fuligena* Roldan ส่วนใหญ่พบในช่วงที่มะเขือเทศเริ่มออกผล อาการที่พบเริ่มจากด้านหน้าใบมีจุดหรือมีบริเวณที่ซีดเหลือง เมื่อพลิกดูใต้ใบพบเขม่าสีดำ ซึ่งเป็นส่วนของราได้เผยแพร่นั้น เมื่อแพร่รวมกันมากทำให้เกิดอาการใบไหม้ และใบมีลักษณะบิดงอ การป้องกันโรคควรฉีดพ่นสารเคมีแมนโคเซบ หรือเบนโนไมล (benomyl) คาร์เบนดาซิม(carbendazim) ในระยะที่มะเขือเทศเริ่มให้ผลทุก ๆ 15 วัน



ภาพประกอบ 4 โรคใบจุดของมะเขือเทศ (leaf spot)

ที่มา: โรคใบจุดของมะเขือเทศ (leaf spot) สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก <http://www.thaikasetsart.com/โรคทางใบมะเขือเทศ>

1.3.4 โรคเหี่ยวที่เกิดจากรา *Sclerotium* (southern blight)

เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. พบบ่อยเช่นเดียวกับ *Fusarium* sp. แต่รานี้จะทำลายและสร้างความเสียหายให้กับพืชได้ดีในดินชื้นแฉะ อาการของโรคสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวของราขึ้นเจริญอยู่ทั่วไปทั้งต้น และบริเวณพื้นดินโดยรอบพร้อมทั้งมีเม็ดสเกลโรเทีย (sclerotium) คล้ายเมล็ดผักกาด มีสีขาวถึงสีน้ำตาลกระจายอยู่ทั่ว การป้องกันควรคลุมดินด้วยสารเคมีคาร์บอกซิน (carboxin) จัดการทำลายผลหรือต้นที่แสดงอาการของโรค ต้องยกแปลงปลูกไม่ให้น้ำแช่ขังกับการทำค้างไม่ให้ผลสัมผัสดินจะช่วยป้องกันได้เนื่องจากรานี้พบในดิน



ภาพประกอบ 5 โรคเหี่ยวที่เกิดจากรา *Sclerotium*

ที่มา: โรคเหี่ยวที่เกิดจากรา *Sclerotium* สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก <http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1568117>

1.3.5 โรคใบจุดสีน้ำตาล (early blight)

โรคใบจุดสีน้ำตาลเกิดจากรา *Alternaria solani* ซึ่งเป็นราที่มีคอนิเดียปลิวปะปนอยู่ในอากาศทั่ว ๆ ไป เจริญขยายพันธุ์และเข้าทำลายพืชก่อให้เกิดโรคได้ดี เมื่ออากาศมีความชื้นสูง ราสามารถเจริญได้ทั้งในพืชที่ยังมีชีวิตอยู่และตายแล้ว ทำให้เกิดการระบาดข้ามฤดู อาการของโรคในต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ด จะสังเกตเห็นแผลยาวสีดำยุบตัวลงจากผิวปกติ เมื่ออาการของโรครุนแรงขึ้น ต้นกล้าจะหักล้มและแห้งตาย หรือการเจริญเติบโต ชะงักลง ส่วนใบของต้นที่เจริญเต็มที่เริ่มจากจุดแผลสีน้ำตาลดำเล็ก ๆ เป็นแอ่งยุบลงไปจากผิวปกติ ส่วนใหญ่เกิดที่ใบแก่ส่วนล่างของต้นก่อน แผลขยายใหญ่ขึ้นและมีจุดสีดำเล็ก ๆ เป็นวงกลมซ้อนกันเป็นชั้น ๆ โดยมีจุดศูนย์กลางร่วมกันจึงเรียกโรคนี้อีกชื่อว่า target spot ใบที่เกิดแผลจะเหลืองเหี่ยวแห้งตายในลักษณะ blight ขึ้น ส่วนต้น กิ่งก้าน หรือก้านใบมีแผลลักษณะเดียวกับในต้นกล้าแต่ใหญ่กว่า และโรคนี้ไม่ทำลายผลมะเขือเทศ ยกเว้นเมื่อต้นพืชอ่อนแออย่างมาก เมื่อเกิดโรค ป้องกันต้นและลดความเสียหายโดยใช้สารเคมีฉีดพ่นทุก ๆ 7-10 วัน เช่น แมนโคเซบ คอปราวิท ไทแรม (thiram) ซีเนบ (zineb) มาเนบ



ภาพประกอบ 6 โรคใบจุดสีน้ำตาล

ที่มา: โรคใบจุดสีน้ำตาล (early blight) สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก
<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/PotatoTomato.aspx>

1.3.6 โรคเหี่ยวจากรา *Fusarium* (*Fusarium wilt*)

โรคเหี่ยวจากรา *Fusarium oxysporum* ที่ทำลายพืชได้อย่างกว้างขวาง ราที่เข้าทำลายมะเขือเทศเป็นชนิด *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สามารถเข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้าผ่านแผลที่รากหรือโคนระดับดินและเจริญอย่างรวดเร็ว ทำให้ท่อลำเลียงน้ำเกิดการอุดตัน ส่งผลให้การดูดซึมน้ำและอาหารและปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในต้นหยุด และทำให้พืชมีอาการเหี่ยวและตายในที่สุด การป้องกันควรเพาะพืชในดินที่สะอาด ระหว่างการเคลื่อนย้ายอุปกรณ์เกษตร ต้องระวัง เพราะอาจมีเชื้อปนเปื้อนไปด้วย และการปลูกพืชในดินที่เป็นเบสเล็กน้อยจะช่วยให้ปลอดภัยกว่าดินที่เป็นกรด



ภาพประกอบ 7 อาการโรคเหี่ยวที่เกิดจาก *Fusarium*

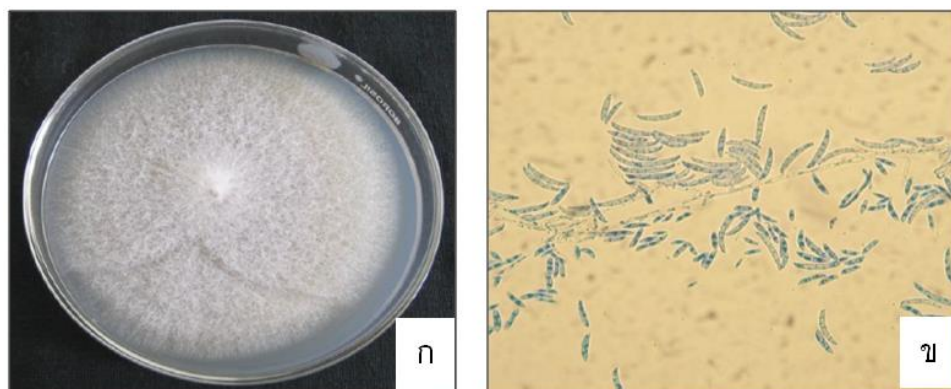
ที่มา: โรคเหี่ยวที่เกิดจาก *Fusarium* สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrator/My%20Documents/Downloads/PM1266.pdf

2. โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมจากรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

2.1 สันฐานวิทยาของรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* เป็นราก่อโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ลักษณะของเส้นใยไม่มีสี หรืออาจเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สีชมพู หรือสีม่วงในบางภาวะ สามารถสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศได้ 3 ชนิด คือ ไมโครคอนิเดีย (microconidia) แมคโครคอนิเดีย (macroconidia) และคลาไมโดสปอร์ (chlamydospores) สปอร์ทั้ง 3 ชนิดสามารถเจริญในดินและอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ไมโครคอนิเดียเป็นสปอร์ที่สร้างได้ในท่อลำเลียงพืชประกอบด้วย 1 - 2 เซลล์ แมคโครคอนิเดียประกอบด้วย 3 - 5 เซลล์ มีรูปร่างโค้งที่ปลายทั้ง 2 ข้างของสปอร์ เกิดในเนื้อผิวพืชที่เป็นโรค คลาไมโดสปอร์ประกอบด้วย 1-2 เซลล์ ผนังหนามีสปอร์กลมอยู่ภายในที่ปลาย หรือตรงกลางอาจเกิดจากแมคโครคอนิเดีย หรือเส้นใยที่แก่ (ไพโรจน์ จ่วงพานิช. 2525: 83-85)



ภาพประกอบ 8 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (ก) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) และ (ข) Microconidia และ Macroconidia

ที่มา: ดัดแปลงจาก Nirmaladevi, D; & Srinivas, C. (2012). Cultural, Morphological, and Pathogenicity Variation in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Causing Wilt of Tomato. *Batman university journal of life science* (2): 5.

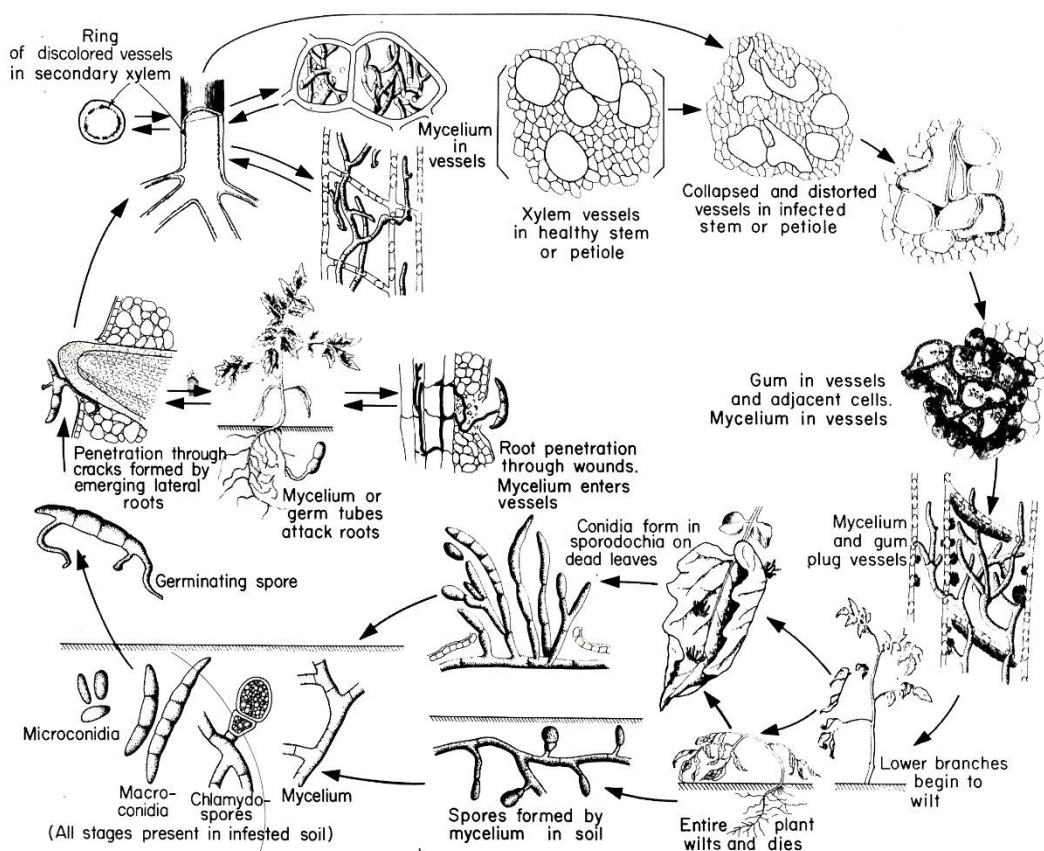
2.2 การจำแนกกลุ่มของรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Fusarium spp. อยู่ใน Phylum Deuteromycota อาจเรียกว่า fungi perfecti หรือ conidial fungi เส้นใยของรากลุ่มนี้มีผนังกันเช่นเดียวกับราชั้นสูงทั่วไป สปอร์ที่สร้างบนก้านชูไม่มีผนังห่อหุ้มกลุ่มของสปอร์ เรียกว่า คอนิเดียม (conidium) สามารถจัดอยู่ใน form-class Hyphomycetes จาก 3 form-class กับอีก 1 กลุ่ม ซึ่งเป็นวิธีที่ยอมรับในปัจจุบัน เป็นกลุ่มราที่พบการสร้างคอนิเดียมเป็นอิสระ ไม่พบโครงสร้างห่อหุ้มหรือรองรับคอนิเดียมที่เรียกว่า พิกนิเดียม (pycnidium) หรืออะเซอวูลัส (acervulus) แต่อาจพบการรวมกันของก้านชูคอนิเดียมเป็นโครงสร้างพิเศษ ที่เรียกว่า ซินนีมา (synnema) หรือสปอโรโดเชียม (sporodochium) ในการแบ่งหมวดหมู่ย่อยนิยมใช้ลักษณะการพัฒนาของคอนิเดียมเป็นหลัก form-class Hyphomycetes มีเพียง 1 form-order คือ Hyphomycetales และมี 6 form-family โดย *Fusarium* spp. จัดอยู่ใน form-family Tuberculariaceae สามารถสร้างคอนิเดียมบนก้านชูแบบที่เรียกว่า “เฟียไลด์ (phialide)” มารวมกันเป็นกลุ่มที่เรียกว่า “สปอโรโดเชียม” แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มแรกเป็นสกุลที่สร้างคอนิเดียมในโครงสร้างเฟียไลด์ (endogenous conidium หรือ phialospore) กลุ่มที่สองเป็นสกุลที่มีการแตกหน่อออกมาจากคอนิเดียมอันแรกส่วนมากต่อกันเป็นสาย โดยคอนิเดียมอันแรกสุดเป็นแบบเฟียโลสปอร์ แต่ คอนิเดียมถัดมาเป็นบลาสโทสปอร์ (blastospore) (นุกูล อินทระสังขา. 2551: 185-189)

2.3 วงจรและอาการของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (*Fusarium wilt*)

ราอยู่ข้ามฤดูได้โดยอาศัยเกาะกินอยู่กับเศษซากพืชที่ปล่อยทิ้งไว้ตามดินปลูกในรูปของเส้นใย และสปอร์ชนิดต่าง ๆ แต่ส่วนมากเป็น chlamydospores แพร่สามารถกระจายตามลม น้ำ อาจติดมากับเครื่องมือทางการเกษตร พืช และดินปลูกพืช เส้นใยหรือสปอร์ของรากอกเข้าสู่พืชทางแผล ปลายรากพืช หรือบริเวณที่แตกออกของรากแขนง เส้นใยจะเจริญเข้าไปในชั้น คอर्टเทกซ์ (cortex) ของรากเข้าสู่ท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และเข้าไปในพิต (pith) เส้นใยจะแพร่ไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยการแตกกิ่ง สร้างไมโครโคนิเดีย เส้นใย และสปอร์เกิดเป็นไทโลส (tylose) อุดตันท่อลำเลียงน้ำ ส่งผลให้น้ำส่งไปเลี้ยงใบไม่เพียงพอ ปากใบจึงปิดเพื่อลดการสูญเสียน้ำ ใบจึงเหี่ยว และทำให้พืชตายในที่สุด (ไพโรจน์ จวงพานิช. 2525: 83-85)

อาการของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมสามารถพบได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต ในต้นกล้าอาการเริ่มแรกคือหยุดการเจริญเติบโต ใบแก่จะตกขอบใบม้วนลงด้านใต้ เหี่ยวเฉาและตายในที่สุด ในต้นแก่มีอาการรุนแรงในระยะให้ดอกหรือขณะมีลูกจะเห็นใบแก่ที่อยู่ตอนล่าง ๆ ของต้นเปลี่ยนเป็นสีเหลือง บางครั้งอาจแสดงออกเพียงด้านใดด้านหนึ่งของต้น ด้านที่เหลืองเจริญได้ตามปกติ ในระยะแรกเกิดขึ้นกับรากพืชเฉพาะซีกเดียวของต้นก่อน ต่อมาหลังรากถูกทำลายหมดอาการเหลืองจะค่อย ๆ กระจายไปยังใบอื่น ๆ ช่วงแรกจะเหี่ยวเฉพาะกลางวันอากาศร้อนและแดดจัด ส่วนเวลากลางคืนจะคืนสู่ภาวะปกติ (ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537: 87) เมื่อความเหี่ยวเพิ่มขึ้นต้นพืชจะแห้งตายในที่สุด (Nirmaladevi ; & Srinivas. 2012: 9) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *F. oxysporum* สามารถเกิดโรคผลเน่าในผลของมะเขือเทศภายหลังการเก็บเกี่ยวด้วย (Chehri. 2015: 537-544)



ภาพประกอบ 9 วงจรการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ที่มา: Agrios N. G. (1969). Plant pathology. p 291.

3. ยีสต์ และการควบคุมโรคพืช

3.1 ลักษณะทั่วไปของยีสต์

ยีสต์ เป็นเชื้อราที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นพวกยูคาริโอต มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ยีสต์แต่ละชนิดจะมีรูปร่างเฉพาะ แต่มักมีรูปไข่ ไม่มีแฟลกเจลลาหรืออวัยวะในการเคลื่อนที่ผนังเซลล์ของยีสต์มีกลูแคนและแมนแนนเป็นองค์ประกอบหลัก มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (budding) การสร้างสปอร์ หรือการแบ่งตัว (fission) พบทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน ในน้ำ (นางลักษณ์ สุวรรณพานิช; และปรีชา สุวรรณพานิช. 2546: 360-375) และในพืชทั้งบนผิวใบพืช ในยาง น้ำหวานของดอกไม้ ในผลไม้เน่าเสีย ยีสต์เจริญในพืชได้เนื่องจากพืชสามารถสังเคราะห์แสง ทำให้มีการ

สังเคราะห์น้ำตาล พอลิแซ็กคาไรด์ และสารประกอบคาร์บอนหลายชนิดที่เป็นขั้วสเทรตสำหรับการเจริญของยีสต์ (สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549: 160; อ้างอิงจาก Phaff ;&Starmer. 1987. The yeast. pp.123-176; Phaff. 1990. Isolation of Biotechnological Organism from Nature. pp. 53-76; Spencer ; &Spencer. 1997. Yeast in Natural and Artificial Habitats. pp. 33-58)

3.2 การจำแนกชนิดของยีสต์

ปัจจุบันการจำแนกชนิดของยีสต์ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี เกณฑ์อนุกรมวิธานเคมี และอนุกรมวิธานระดับโมเลกุล โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาใช้จำแนกประเภทในระดับสกุลขึ้นไปมักเกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีใช้จำแนกในระดับชนิด พิจารณาจากการหมักคาร์โบไฮเดรตและการอะซิมีเลต สารประกอบคาร์บอน การเจริญบนแหล่งไนโตรเจน ความต้องการวิตามิน การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ การเจริญบนน้ำตาลหรือกลีโคไซด์เคมิลอไรด์ความเข้มข้นสูง การไฮโดรไลซ์ยูเรีย และความทนต่อสารปฏิชีวนะ (สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549: 55-84) อนุกรมวิธานทางเคมี เป็นการประเมินองค์ประกอบทางเคมีของสิ่งมีชีวิตทั้งเมแทบอลิต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) และเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) รวมถึงกิจกรรมทางเคมี หรือสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิต (สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549: 78; อ้างอิงจาก Hawksworth. 1995. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. ; Frisvad; et al. 1998. Chemical Fungi Taxonomy)

แบบแผนทั่วไปในการจัดจำแนกยีสต์ในระดับชั้น (Taxa) ที่สูงขึ้น แยกยีสต์ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่มที่ 1 ยีสต์ที่มีการสร้างแอสโคสปอร์ สปอร์เกิดจากการรวมตัวของนิวเคลียส แล้วแบ่งแบบไมโอซิสภายในแอสคัส (ascus) กลุ่มที่ 2 ยีสต์ที่มีการสร้างเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) สปอร์เกิดจากการรวมตัวกันของนิวเคลียสแล้วแบ่งแบบไมโอซิสบนเบสิดิเดียม กลุ่มที่ 3 ยีสต์ที่ไม่มีการสร้างสปอร์แบบมีเพศ จัดอยู่ในพวก Deuteromycetes (นางลักษณ์ สุวรรณพานิช; และปรีชา สุวรรณพานิช. 2546: 363)

ในการระบุ และจำแนกชนิดของยีสต์ในอดีตนั้นพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี ดังกล่าวมาข้างต้น ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคทางชีวโมเลกุลและนำมาใช้ในการระบุชนิดของยีสต์ซึ่งมีอยู่หลายเทคนิค เช่น การระบุชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอ (DNA typing methods) ที่สำคัญประกอบด้วย karyotyping โดยใช้ pulsed field gel electrophoresis (PEGE) การวิเคราะห์จีโนมโดย random amplified polymorphic DNA (RAPD) การวิเคราะห์ amplified fragment length polymorphism (AFLP) และการวิเคราะห์ restriction fragment length polymorphism (RFLP) การวิเคราะห์ Restriction fragment length polymorphism (RFLP analysis) ของ amplified ribosomal DNA (สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549: 110)

จากเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่กล่าวข้างต้น การวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีนอาร์ดีเอ็นเอ (ribosomal DNA gene หรือ rDNA gene) เป็นวิธีที่ให้ผลละเอียดและแม่นยำมากในทางปฏิบัติ และสามารถแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยเฉพาะบริเวณ D1/D2 ส่วนใหญ่ใช้เป็นจุดอ้างอิงเพราะเป็นบริเวณที่มีวิวัฒนาการน้อย เป็นลำดับเบสแบบอนุรักษ์มีขนาด 600 นิวคลีโอไทด์อยู่ที่ปลาย 5' ของ 26s rDNA และอีกบริเวณคือ ITS ซึ่งอยู่ระหว่างปลาย 3' ของ 18s rDNA กับปลาย 5' ของจีน 26s rDNA โดยแบ่งเป็น ITS1 และ ITS2 ซึ่งมีจีน 5.8s rDNA คั่นอยู่ตรงกลาง เมื่อนำลำดับเบสของทั้ง 2 บริเวณนี้มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางพันธุศาสตร์ หากมีความแตกต่างกันมากกว่าร้อยละ 1 อาจสรุปได้ว่าเป็นยีสต์ต่างชนิดกัน และนำข้อมูลมาเขียนต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree) เพื่อหาความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับยีสต์กลุ่มอื่น (อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์. 2558: 20) ในการระบุชนิดของยีสต์ของ Zarzoso et al. (1999) มีใช้ ITS1 และ ITS2 และ 5.8s ระบุชนิดยีสต์ 132 สปีชีส์ โดยมีความแตกต่างกันถึง 25 สกุล นอกจากนี้ในการแยกยีสต์ปฏิบัติที่คัดเลือกได้จากผลของจำนวน 144 ไอโซเลตเพื่อควบคุมรา *Aspergillus carbonarius* และ *A. niger* บนผลของงุ่นนั้นก็เลือกใช้ rDNA บริเวณ 5.8s-ITS เพื่อระบุชนิดยีสต์เช่นกัน (Bleve; et al. 2006: 204-209)

3.3 การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช

ยีสต์มีกลไกจัดการเชื้อก่อโรคในพืชในหลายแบบ เช่น กลไกการแย่งแย่งอาหาร (competition for nutrient) กลไกการสร้างไลติกเอนไซม์ (lytic enzyme) กลไกการสร้างคิลเลอร์ทอกซิน (killer toxin production) การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (induction of host resistance) และกลไกการเกาะติดกับเนื้อเยื่อพืชหรือเส้นใยรากโรค (attachment to fungus hyphae) (อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์. 2558: 321-325) จากกลไกเหล่านี้ทำให้ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ควบคุมโรคพืชจะเห็นได้จากงานวิจัยต่อไปนี้

จากการแยกยีสต์ปฏิบัติที่คัดเลือกได้จากผลของงุ่นพันธุ์ปลูก Negroamaro พบว่า มียีสต์ 28 ไอโซเลต จำแนกได้ 5 ชนิดด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล ได้แก่ *Issatchenkia orientalis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Issatchenkia terricola* และ *Candida incommunis* สามารถยับยั้งรากโรค *Aspergillus carbonarius* และ *A. niger* บนผลของงุ่นได้ โดยยีสต์ชนิด *I. orientalis* จำนวน 2 ไอโซเลตให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุด ยีสต์ปฏิบัติที่มีศักยภาพในการควบคุมรา *A. carbonarius* และ *A. niger* เป็นยีสต์บนผลของงุ่น ดังนั้นยีสต์ดังกล่าวจึงเป็นไมโครฟลอรา (microflora) บนผลของงุ่น (Bleve; et al. 2006: 204-209)

จากการแยกยีสต์ 60 ไอโซเลต และแบคทีเรีย 92 ไอโซเลต จากผิวของมะละกอและพืชตระกูลส้มหลายสายพันธุ์ในแอฟริกาใต้ พบว่ายีสต์ 10 ไอโซเลต และแบคทีเรีย 10 ไอโซเลต ทำ

ให้ *Penicillium digitatum* เจริญลดลงมากกว่า 50 % เมื่อใส่ยีสต์ปฏิบัฏ 48 ชั่วโมงลงบนผลมะนาว (lemon) ส้ม Navel และ Valencia พบว่า ยีสต์ 2 ไอโซเลต (B13 และ Grape) ทำให้การเน่าเสียลดลง โดยมีการเกิดรอยโรคน้อยกว่า 5 % ซึ่งผลส้มและมะนาวที่ไม่ใส่ยีสต์ปฏิบัฏมีการเกิดรอยโรคมากกว่า 50 % (Abraham; et al. 2010: 32-38)

Cryptococcus laurentii (strain 317) และ *Candida ciferrii* (strain 283) เป็นยีสต์ที่แยกจากผิวของแอปเปิ้ลสามารถลดอัตราการเจริญของรา *Penicillium expansum* บนผลแอปเปิ้ลที่ 25°C ได้ถึงร้อยละ 80 ซึ่งเกิดจากกลไกการแก่งแย่งอาหารของยีสต์ทั้ง 2 ชนิดกับราก่อโรคนี้ (Vero; et al. 2002: 91-98)

มีการรายงานว่ายีสต์ *Pichia membranefaciens* มีความสามารถในการยึดเกาะเส้นใยก่อโรคได้ถึง 3 ชนิดคือ *Monilinia fructicola*, *Penicillium expansum* และ *Rhizopus stolonifer* โดยสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และพบว่ายีสต์ดังกล่าวสามารถสร้าง บีตา-1,3-กลูแคนเนส (β -1,3-glucanase) และไคตินเนส (chitinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายคอนิเดียและเส้นใยราก่อโรคทำให้สามารถควบคุมการเจริญของราทั้ง 3 ชนิดได้ (Chan ;& Tian. 2005:215-223)

จากการศึกษาชีววิธีควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวพบว่ายีสต์ *Debaryomyces hansenii* ที่แยกจากผิวมะนาวสามารถยับยั้งการเกิดของโรคราสีเขียว (green mold) ของพืชตระกูลส้มได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ 11°C นาน 21 วัน (Chalutz; & Wilson. 1989:134-137)

ในบางครั้งการใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืชเพียงวิธีเดียวอาจให้ผลไม่ค่อยดีอาจต้องใช้วิธีอื่นร่วมด้วย เช่น Tian et al. (2002: 352-358) พบว่าการใช้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizopus stolonifer* ซึ่งไม่มีผลต่อยีสต์ปฏิบัฏ (*Pichia membranefaciens* และ *Candida guilliermondii*) บนอาหารวุ้นแข็ง PDA และในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการ แคลเซียมช่วยลดอัตราการงอกของสปอร์ ท่อเจริญ (germ tube) เจริญได้ช้า อัตราการเกิดโรคต่ำ เส้นผ่านศูนย์กลางของโรคมิขนาดเล็เมื่อเทียบกับการใส่เชื้อยีสต์ปฏิบัฏเพียงอย่างเดียว

จากการค้นคว้าและวิจัยเรื่องยีสต์ในระดับห้องปฏิบัติการ มีการนำองค์ความรู้ไปสู่การพัฒนาให้เกิดประโยชน์ในทางการค้าเป็นเพื่อใช้ควบคุมโรคพืชต่าง ๆ ได้ทั่วโลก ดังแสดงให้เห็นในตาราง 1

ตาราง 1 ผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ใช้ยีสต์ควบคุมราก่อโรคในพืชผลทางการเกษตร

ชื่อการค้า	จุลินทรีย์	ชื่อโรค	ผู้ผลิต
AQ 10	<i>Ampelomyces quisqualis</i> M-10	ราแป้ง	Ecogen, สหรัฐอเมริกา
Binab	<i>Trichoderma</i> spp.	รากเน่า, เหี่ยวเฉา	Binab, สวีเดน
Biofungus, Superesivit	<i>Trichoderma</i> spp.	รากเน่า, เหี่ยวเฉา	Bioplant, เดนมาร์ก
KONI	<i>Coniothyrium minitans</i>	รากเน่า	Bioved, ฮังการี
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	รากเน่า	Biopreparaty, สาธารณรัฐเชค

ที่มา: ดัดแปลงจาก Punja.; & Utkhede. (2003, September). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. TRENDS in Biotechnology. 9(21):401

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี วัสดุ และเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

1.1 วัสดุอุปกรณ์

- จานเพาะเชื้อ (petri dish) ขนาด 25 × 25 เซนติเมตร ยี่ห้อ Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 10 – 1,000 ไมโครลิตร
- หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 10 × 75 มิลลิเมตร
- ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 – 1,000 มิลลิตร
- เข็มฉีดยา ขนาด 10 มิลลิตร
- คอร์กบอโร (cork borer)
- กระดาษปลุก
- กระดาษเพาะ

1.2 เครื่องมือ

- กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) ยี่ห้อ Olympus รุ่น CHS ประเทศญี่ปุ่น
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้ออัตโนมัติ (autoclave) Allamerican ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ไมโครเวฟ ยี่ห้อ LG ประเทศไทย
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) ยี่ห้อ Dwyer MARK II ประเทศสหรัฐอเมริกา
- กล้องถ่ายรูป ยี่ห้อ Fuji film รุ่น XA-2 ประเทศไทย
- ตู้บ่มเชื้อ (incubator) ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี
- แผ่นนับเซลล์หรือฮีมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer) ยี่ห้อ T.Science ประเทศไทย
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ ALC รุ่น PLC-012 ประเทศจีน
- เครื่องเขย่า (shaker) ยี่ห้อ LABWIT รุ่น ZWY-304 ประเทศญี่ปุ่น

1.3 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ยี่ห้อ HiMedia ประเทศอินเดีย
- Yeast extract ยี่ห้อ Biomark ประเทศอินเดีย
- Malt extract ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
- Peptone ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
- Dextrose ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

- ผงวุ้น ยี่ห้อตราช้าง ประเทศไทย
- ethylalcohol เข้มข้นร้อยละ 70
- แคปแทน (Captan) ยี่ห้อ ออโธไซด์ ประเทศไทย

1.4 ราและพันธุ์มะเขือเทศที่ใช้ในการวิจัย

รา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* จากกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรค

พืช สำนักงานพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เมล็ดมะเขือเทศ *Lycopersicon esculentum* Mill. พันธุ์สีดาและพันธุ์ลูกท้อ ตราเครื่องบิน บริษัท เจียไต๋ จำกัด

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมราและสปอร์ของรา *Fusarium oxysporum*

นำรา *F. oxysporum* มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 7-10 วัน ซึ่งเป็นระยะที่เส้นใยราเจริญเต็มที่ มีสปอร์สีชมพูอ่อนจนถึงสีม่วง จากนั้นทำคอนิเดียแขวนลอย (conidia suspension) ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ โดยใส่น้ำกลั่นปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสลงในหลอดเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชูดผิวหน้าเส้นใย เพื่อให้สปอร์แตก ปล่อยแมโครคอนิเดียและไมโครคอนิเดียสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้แผ่นนับเซลล์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้

นำเปลือกผลไม้สุก 13 ชนิด ได้แก่ เงาะ ละมุด แอปเปิ้ล แก้วมังกร ส้ม องุ่น ชมพู่มะละกอ มะม่วง กัลย ลินจี ส้มโอ และลองกอง ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 2 วันหนัก 50 กรัม มาแช่น้ำปราศจากเชื้อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง ใช้ Loop ฆ่าเชื้อด้วยความร้อนจุ่มลงไปในการที่แช่เปลือกผลไม้แต่ละชนิด จากนั้นนำมาชีดบนอาหารแข็ง YM (yeast malt agar) บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน และสุ่มเลือกโคโลนีเดี่ยวมา cấyในอาหารแข็ง YM บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ศึกษาสมบัติทางชีวเคมี และลักษณะของสปอร์ในเซลล์ยีสต์ (Evans. 1996: 1-4)

2.3 การเตรียมยีสต์และเซลล์ยีสต์แขวนลอย

นำยีสต์ที่ได้ในข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหาร YM บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เลือกลโคโลนีเดียวไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YM (yeast malt broth) และเขย่าที่ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำอาหารที่เลี้ยงยีสต์ดังกล่าวมาปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เพื่อแยกยีสต์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเซลล์ยีสต์ที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง นับเซลล์ให้มีความเข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้แผ่นนับเซลล์ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป (ดัดแปลงจาก อรุณ ชาญชัย เชาวีวัฒน์; และ จุริมาศ วงศ์ศรีรัตน์. 2552: 120-131)

2.4 การคัดเลือกยีสต์ปฏิบัติการในการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหาร PDA ด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์และสปอร์ราบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เจาะหลุมตรงกลาง (well test)

ศึกษาการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหาร PDA โดยเทอาหารปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ เมื่ออาหารวุ้นแข็งตัวใช้คอร์กบอเรียร์เจาะอาหารตรงส่วนกลางของจานเพาะเชื้อให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร จากนั้นหยดเซลล์แขวนลอยของยีสต์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และคอนิเดียแขวนลอยของราเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของรา และบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา (เซนติเมตร) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบราที่เจริญบนผิวหน้าของ PDA กับตัวควบคุมให้ผลบวก (แคปแทน) และตัวควบคุมให้ผลลบ (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) (ดัดแปลงจาก อรุณ ชาญชัย เชาวีวัฒน์; และ จุริมาศ วงศ์ศรีรัตน์. 2552: 120-131) โดยคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา คือ

$$P = \frac{C - T}{C} \times 100$$

เมื่อ P คือ ร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา

C คือ เส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญของโคโลนีรา (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ+คอนิเดียของรา)

T คือ เส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญของโคโลนีรา (เซลล์ยีสต์ + คอนิเดียของรา)

คัดเลือกยีสต์ปฏิบัติการที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งรา $\geq$ ร้อยละ 50 เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กษาในการยับยั้งการเจริญของรา *F.*

oxysporum บนอาหาร PDA

ศึกษาการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหาร PDA โดยเทอาหาร ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ ใช้ loop ฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมบริเวณผิวหน้าอาหารตรงกลางจาน ให้เป็นรอยลึกประมาณ 1 เซนติเมตรจากนั้นหยดเซลล์แขวนลอยของยีสต์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และคอนิเดียแขวนลอยของราเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของรา และบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีรา (เซนติเมตร) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบราที่เจริญบน ผิวหน้าของ PDA กับตัวควบคุมให้ผลบวก (แคปแทน) และตัวควบคุมให้ผลลบ (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) โดยคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา เช่นเดียวกับข้อ 2.4

2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กษต่อการงอกของเมล็ดและการ

เจริญเติบโตของมะเขือเทศบนกระดาษเพาะเมล็ด

นำเมล็ดมะเขือเทศมาทำให้ปราศจากเชื้อโดยแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium - hypochlorite) เข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำไปวาง บนกระดาษเพาะในจานที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร กำหนดวางจานละ 10 เมล็ด วางไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เลือกเมล็ดที่ radicle งอก มาแช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กษาความ เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตากเมล็ดให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปแช่ กับคอนิเดียแขวนลอยของรา *F. oxysporum* เข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ว นำไปวางบนกระดาษเพาะในจานที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร จานละ 10 เมล็ด วางไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้แคปแทนเป็นตัวควบคุมให้ผลบวก และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็น ตัวควบคุมให้ผลลบ ทำการทดลอง 3 ครั้ง ๆ ละ 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละการงอกของเมล็ด วัดการ เจริญเติบโตของต้นกล้าด้านความยาวรากและลำต้น (ดัดแปลงจากจรรยาพรณ รักผล. 2555: 27-31) ดังนี้

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ด} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนที่เพาะทั้งหมด}} \times 100$$

2.7 การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อต้านกล้ามะเขือเทศหลังการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศในกระถางปลูก

นำเมล็ดมะเขือเทศมาทำให้ปราศจากเชื้อโดยแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำไปวางบนกระดาษเพาะในจานที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร วางจานละ 10 เมล็ด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เลือกเมล็ดที่ radicle งอก มาแช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์ความเข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตากเมล็ดให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปแช่ในคอนิเดียแขวนลอยของรา *F. oxysporum* เข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวางในกระถางปลูกที่มีดินปราศจากเชื้อ กระถางละ 10 เมล็ด วางไว้ในโรงเรือนปิดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้แคปแทนเป็นตัวควบคุม ให้ผลบวก และนำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมให้ผลลบ ทำการทดลอง 3 ครั้ง ๆ ละ 3 ซ้ำ คำนวณ ร้อยละการงอกของเมล็ด วัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าด้านความยาวรากและลำต้น (ดัดแปลงจาก ขจรพรรณ รักผล. 2555: 27-31)

2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียบนต้นมะเขือเทศ

นำต้นมะเขือเทศอายุ 80–90 วันมาทำรอยโรคขนาด 1 เซนติเมตร และหยดเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรบนรอยโรคทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นหยดคอนิเดียแขวนลอยของรา *F. oxysporum* เข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วางไว้ในโรงเรือนปิดที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้แคปแทนเป็นตัวควบคุมให้ผลบวก และนำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมให้ผลลบ ทำการประเมินความรุนแรงทุก ๆ 7 วันหลังใส่เชื้อเป็นเวลา 28 วัน โดยใช้ระดับความรุนแรงที่ดัดแปลงจาก Nirmaladevi & Srinivas (2012) ดังนี้

- 1 หมายถึง ไม่พบอาการของโรค
- 2 หมายถึง เริ่มมีลักษณะ chlorosis หรืออาการเหี่ยว
- 3 หมายถึง มีลักษณะ chlorosis หรืออาการเหี่ยวในระดับปานกลาง
- 4 หมายถึง มีลักษณะ chlorosis หรืออาการเหี่ยวอย่างรุนแรง
- 5 หมายถึง ต้นเหี่ยว และแห้งตาย

2.9 การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซา

เตรียมบนผลมะเขือเทศ

นำผลมะเขือเทศสีดา (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ที่สด ที่ไม่มีรอยแผล และขนาดเส้นรอบวงตรงกลางผลใกล้เคียงกันมาแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์เข้มข้นร้อยละ 0.1 นาน 2 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ทำรอยโรคโดยใช้คอร์กบอเรียร์เจาะผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรจำนวน 3 รอยต่อหนึ่งผล ใส่เซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิเมตร ปริมาณ 10 ไมโครลิตรลงไปที่รอยแผล ตากผลให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และหยดคอนิเดียแขวนลอยของรา *F. oxysporum* เข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิเมตร ปริมาณ 10 ไมโครลิตรลงไปที่รอยแผล นำไปใส่ในกล่องพลาสติกปราศจากเชื้อ ให้ความชื้นด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน อุณหภูมิห้อง โดยใช้แคปแทนเป็นตัวควบคุมให้ผลบวก และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมให้ผลลบ ทำการทดลอง 3 ครั้ง ๆ ละ 3 ซ้ำ และประเมินการเกิดโรคบนผล 5 ผล นำจำนวนรอยแผลที่เกิดโรคมาคำนวณหาร้อยละการเกิดโรค (vero; et al. 2002: 92) ดังนี้

$$\text{ร้อยละของการเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนรอยแผลที่เกิดโรค}}{\text{จำนวนรอยแผลทั้งหมด}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomised design, CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์

บทที่ 4

ผลการทดลอง

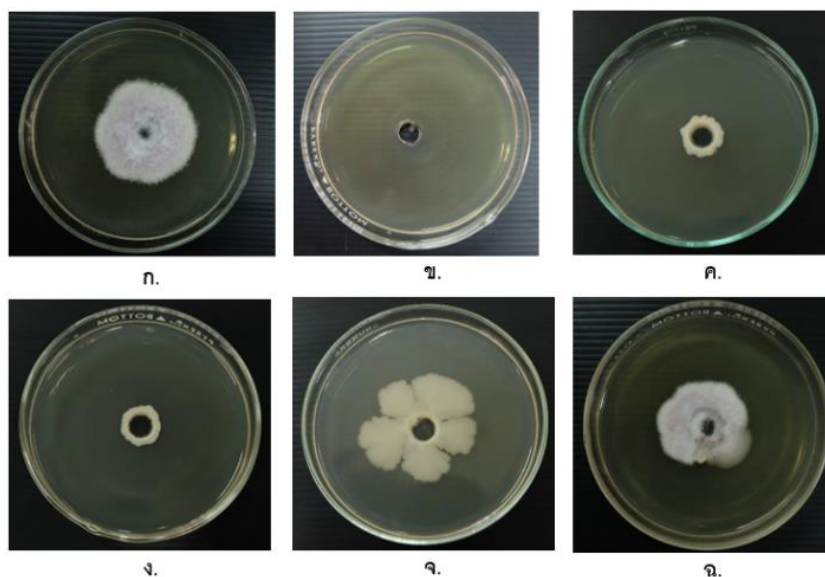
งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและคัดเลือกยีสต์ปฏิสัมพันธ์ที่มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) บนอาหารรุ้นแข็ง PDA การงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดทั้งบนกระดาษเพาะเมล็ด และในกระถางปลูก บนผล และต้นมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ โดยผู้วิจัยได้วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองดังต่อไปนี้

1. การแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ และคัดเลือกยีสต์ปฏิสัมพันธ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม
2. การระบุชนิดของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ด้วยสมบัติทางชีวเคมี
3. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต่อการยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* บนอาหารรุ้นแข็ง PDA
4. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด
5. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก
6. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ
7. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศ

1. การแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ และคัดเลือกยีสต์ปฏิสัมพันธ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม

จากการแยกยีสต์ที่มีลักษณะของโคโลนี สี และลักษณะเซลล์ที่แตกต่างกันจากเปลือกผลไม้ 13 ชนิดได้แก่ เาะาะ ละมุด แอปเปิ้ล แก้วมังกร ส้ม องุ่น ชมพู่มะละกอ มะม่วง กัลยาลิ้นจี่ ส้มโอ ลองกอง

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 160 ไอโซเลต จากนั้นคัดเลือกยีสต์ปฏิบัติด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์และสปอร์ราบนจานเพาะเชื้อ PDA ที่เจาะหลุมตรงกลาง โดยหยดเซลล์แขวนลอยของยีสต์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และคอนิเดียแขวนลอยของราเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมตรงกลาง จากนั้นบ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่า มียีสต์ 3 ไอโซเลตได้แก่ STPY0008 (แยกได้จากเปลือกกะมุด) STPY0012 และ STPY0150 (แยกได้จากแอปเปิ้ล) สามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ได้อย่างน้อยร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับ ตัวควบคุมให้ผลลบ (negative control) ซึ่งพบการเจริญของราที่มีเส้นใยสีม่วงบนผิวหน้าของอาหารวุ้นแข็ง PDA โดยโคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5 เซนติเมตร (ภาพประกอบ 10-ก) บนอาหารที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก (positive control) ไม่พบการเจริญของราบนผิวหน้าอาหารวุ้นแข็ง PDA (ภาพประกอบ 10-ข) โคโลนีของไอโซเลต STPY0008 มีสีเหลืองเจริญรอบขอบหลุมและห่างจากขอบหลุมประมาณ 1 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของราที่ผิวหน้าอาหารวุ้นแข็ง PDA (ภาพประกอบ 10-ค) โคโลนีของไอโซเลต STPY0012 มีสีเหลืองเจริญรอบขอบหลุมและห่างจากขอบหลุมประมาณ 1 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของราที่ผิวหน้าอาหารวุ้นแข็ง PDA (ภาพประกอบ 10-ง) และโคโลนีของไอโซเลต STPY0150 มีสีเหลือง และมีลายสีขาวกระจายทั่วโคโลนี เจริญรอบขอบหลุมและห่างจากขอบหลุมประมาณ 5 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของราที่ผิวหน้าอาหารวุ้นแข็ง PDA (ภาพประกอบ 10-จ) จากการทดสอบแสดงให้เห็นว่า ยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตเป็นยีสต์ปฏิบัติต่อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จึงคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป ส่วนยีสต์ไอโซเลตอื่นๆ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรานี้ได้ ดังตัวอย่างการเจริญของรานี้ปกคลุมพื้นที่การเจริญของยีสต์ไอโซเลต STPY0006 บนอาหารวุ้นแข็ง PDA (ภาพประกอบ 10-ฉ)



ภาพประกอบ 10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหารวุ้นแข็ง PDA ด้วยวิธี well test ที่เติมยีสต์แตกต่างกัน (ก) น้ำกลั่น (ตัวควบคุมให้ผลลบ) (ข) แคปแทน (ตัวควบคุมให้ผลบวก) (ค) STPY0008 (ง) STPY0012 (จ) STPY0150 และ (ฉ) STPY0006 (ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของรา)

2. การระบุชนิดของยีสต์ปฏิบัติการด้วยสมบัติทางชีวเคมี

เมื่อนำยีสต์ปฏิบัติการที่คัดเลือกได้มาจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบ API พบว่ายีสต์ปฏิบัติการ 2 ไอโซเลตได้แก่ STPY0008 และ STPY0012 มีสมบัติทางชีวเคมีเหมือนกับยีสต์ *Candida krusei* โดยมีความไว (sensitivity) เท่ากับร้อยละ 97.6 และจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีทางชีวเคมีด้วยวิธี VITEK 2 Compact พบว่า STPY0150 มีสมบัติทางชีวเคมีเหมือนกับยีสต์ *Candida krusei* โดยมีความไวเท่ากับร้อยละ 99 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกยีสต์ใน The yeasts: A taxonomic study (Kreger-van Rij, 1984) ได้ผลการเปรียบเทียบดังนี้

ยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลต ได้แก่ STPY0008, STPY0012 และ STPY0150 ไม่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส (urease) เมื่อทดสอบการแอสซิมิเลชัน (assimilation) สารประกอบคาร์บอนประเภทแอลกอฮอล์ 2 ชนิด พบว่ายีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตให้ผลลบกับ erythritol และให้ผลบวกกับ glycerol สำหรับการแอสซิมิเลชัน

สารประกอบคาร์บอนประเภทคาร์โบไฮเดรต พบว่า ยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตให้ผลการแอสซิมิเลชันคาร์โบไฮเดรตเหมือนกัน โดยให้ผลลบกับน้ำตาลคาร์บอนหกอะตอม (hexose) ชนิด D-galactose, L-sorbose และให้ผลบวกกับ D-glucose สำหรับน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) พบว่าให้ผลลบกับ Lactose, D-cellobiose, D-maltose, D-melibiose และ D-trehalose ส่วนน้ำตาล 3 โมเลกุล (trisaccharide) พบว่าให้ผลลบกับ D-raffinose และ D-melezitose สำหรับน้ำตาล 5 โมเลกุล (pentose) พบว่าให้ผลลบกับ L-rhamnose L-arabinose และ D-xylose นอกจากนี้ยังให้ผลลบกับ DL-lactate และแอสซิมิเลตกลุ่มกรดอินทรีย์ชนิดซิเตรต (sodium citrate) และไม่แอสซิมิเลตสารประกอบไนเตรต (nitrate) ผลการทดสอบทางชีวเคมีของยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตแสดงในตาราง 2



ตาราง 2 ผลทดสอบทางชีวเคมีของยีสต์ 3 ไส้หลอด (STPY0008 STPY0012 และ STPY0150)

เปรียบเทียบกับ *Candida krusei* (Kreg van Rij. 1984: 726–728)

การทดสอบ	STPY0008	STPY0012	STPY0150	<i>C. krusei</i>
Acidification of				
D-glucose	+	+	N/A	N/A
D-galactose	–	–	N/A	N/A
D-saccharose	–	–	N/A	N/A
D-trehalose	–	–	N/A	N/A
D-raffinose	–	–	N/A	N/A
β -maltosidase	–	–	N/A	N/A
α -amylase	–	–	N/A	N/A
β -xylosidase	–	–	N/A	N/A
β -glucuronidase	–	–	N/A	N/A
urease	–	–	(–)	V
N-acetyl- β -glucosaminidase	–	–	N/A	N/A
β -galactosidase	–	–	N/A	N/A
L-lysine-arylamidase	–	–	–	N/A
leucine-arylamidase	+	+	+	N/A
arginine	–	–	–	N/A
tyrosine arylamidase	(–)	–	+	N/A
β -N-acetyl-glucosaminidase	–	–	–	N/A
γ -glutamyl-transferase	–	–	(–)	N/A
PNP-N-acetyl- β -D-galactosaminidase	–	–	–	N/A
α -glucosidase	–	–	–	N/A
esculin hydrolysis	–	–	–	N/A

ตาราง 2 (ต่อ)

การทดสอบ	STPY0008	STPY0012	STPY0150	<i>C. krusei</i>
Assimilation				
L-malate	–	–	+	N/A
erythritol	–	–	–	–
glycerol	+	+	+	+
arbutine	–	–	–	N/A
amygdaline	–	–	–	N/A
D-galactose	–	–	–	–
gentiobiose	–	–	–	N/A
D-glucose	+	+	+	+
lactose	–	–	–	–
methyl- α -D-glucopyranoside	–	–	–	N/A
D-cellobiose	–	–	–	–
D-maltose	–	–	–	–
D-raffinose	–	–	–	–
D-mannose	+	+	+	N/A
D-melibiose	–	–	–	–
D-melezitose	–	–	–	–
L-sorbose	–	–	–	V
L-rhamnose	–	–	–	–
Xylitol	–	–	–	N/A
L-sorbitol	–	–	–	N/A

ตาราง 2 (ต่อ)

การทดสอบ	STPY0008	STPY0012	STPY0150	<i>C. krusei</i>
Assimilation				
saccharose /sucrose	–	–	–	N/A
D-turanose	–	–	–	N/A
D-trehalose	–	–	–	–
Nitrate	–	–	–	–
L-arabinose	–	–	–	–
D-galacturonate	–	–	–	N/A
L-glutamate	–	–	+	N/A
D-xylose	–	–	–	–
DL-lactate	+	+	+	+
Acetate	+	+	+	N/A
citrate (sodium)	–	–	–	V
glucuronate	–	–	–	N/A
L-proline	+	+	+	N/A
2-keto-D- gluconate	–	–	–	N/A
N-acetyl-glucosamine	+	+	+	N/A
D-gluconate	–	–	–	N/A

+ = Positive reaction, – = Negative reaction, (–) = Weak-negative reaction, N/A = Data not shown,

V= some strains give a positive reaction, other a negative one

3. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* บนอาหารวุ้นแข็ง PDA

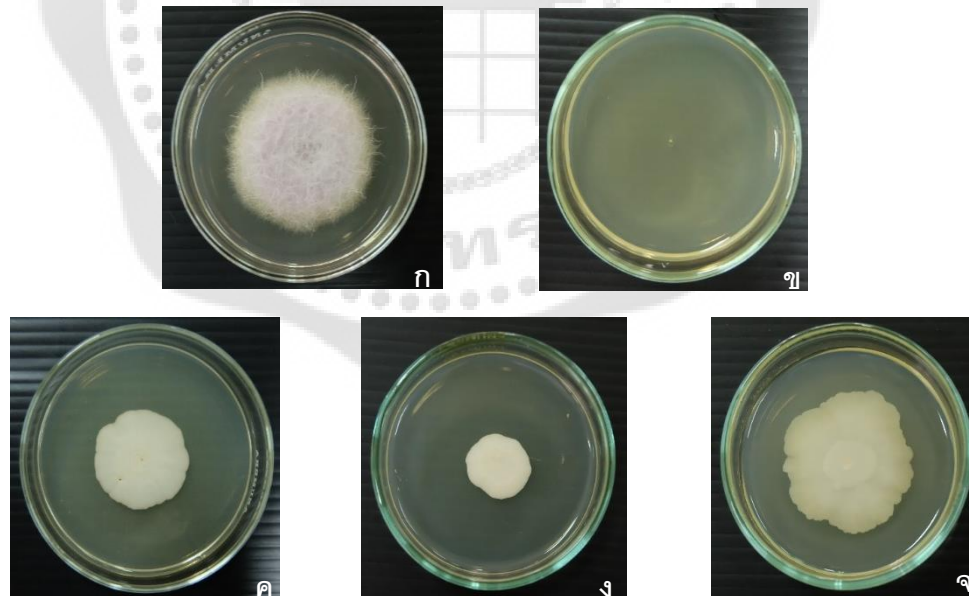
จากการคัดเลือกยีสต์ปฏิบั้กซ์ด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์และสปอร์ราบนจานเพาะเชื้อ PDA ที่เจาะหลุมตรงกลางสามารถเลือกยีสต์ปฏิบั้กซ์มา 3 ไอโซเลตได้แก่ STPY0008, STPY0012 และ STPY0150 จากนั้นนำมาทดสอบหาความสามารถของยีสต์ปฏิบั้กซ์ในการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหารวุ้นแข็ง PDA โดยใช้เซลล์แขวนลอยของยีสต์เข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และคอนิเดียแขวนลอยของราเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร พบว่าในจานเพาะเชื้อที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบ่งมีการเจริญของเส้นใยราที่มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.6 เซนติเมตร (ภาพประกอบ 11-ก) ในจานเพาะเชื้อที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบ่งไม่พบการเจริญของเส้นใยรา (ภาพประกอบ 11-ข) ในจานเพาะเชื้อที่ใส่ยีสต์ปฏิบั้กซ์ STPY0008 พบการเจริญของโคโคนีียีสต์ มีสีเหลือง มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของเส้นใยรา (ภาพประกอบ 11-ค) ในจานเพาะเชื้อที่ใส่ยีสต์ปฏิบั้กซ์ STPY0012 พบการเจริญของโคโคนีียีสต์ มีสีเหลือง มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของเส้นใยรา (ภาพประกอบ 11-ง) ในจานเพาะเชื้อที่ใส่ยีสต์ปฏิบั้กซ์ STPY0150 พบการเจริญของโคโคนีียีสต์ มีสีเหลือง มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5 เซนติเมตร และไม่พบการเจริญของเส้นใยรา (ภาพประกอบ 11-จ) เมื่อคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา พบว่า ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตนี้สามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) โดยให้ผลไม่แตกต่างจากสารแคปแทนซึ่งเป็นสารที่เกษตรกรใช้กำจัดรานี้ในแปลงปลูก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 3)

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยของร้อยละการยับยั้งการเจริญของราบนอาหารวุ้นแข็ง PDA

การทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของร้อยละการยับยั้งการเจริญของรา*
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	0 ^a ± 0
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	100 ^b ± 0

* ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้งแต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และ

** ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพประกอบ 11 ลักษณะโคโลนีรา *F. oxysporum* ที่เจริญบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เติมยีสต์ปฏิปักษ์แตกต่างกัน (ก) น้ำกลั่น (ข) แคปแทน (ค) STPY0008 (ง) STPY0012 และ (จ) STPY0150

4. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด

เมื่อคัดเลือกเมล็ดมะเขือเทศที่มีเรดิเคิล (radicle) งอกออกมา หลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 3 วัน มาแช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบัฏ์ทั้ง 3 ไสโซเลต (STPY0008, STPY0012 และ STPY0150) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วพักทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาแช่ในคอนิเดียแขวนลอยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับเมล็ดมะเขือเทศที่ทดสอบด้วยน้ำกลั่น และแคปแทน ได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด

จากการทดลองพบว่าเมล็ดที่แช่ด้วยยีสต์ปฏิบัฏ์ STPY0008, STPY0012 และ STPY0150 งอกได้ทุกเมล็ดคิดเป็นร้อยละการงอกได้เท่ากับ 100 ส่วนเมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลลบมีร้อยละการงอกเท่ากับ 82.22 และเมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลบวกมีร้อยละการงอกเท่ากับ 98.89 ยีสต์ปฏิบัฏ์มีร้อยละการงอกไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 4)

ตาราง 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบัฏ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด

การทดสอบ	ร้อยละการงอกของเมล็ดมะเขือเทศ*
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	82.22 ^a ± 9.49
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	98.89 ^b ± 1.11
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	100 ^b ± 0

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศ หลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาดเพาะเมล็ด

เมื่อวัดความยาวรากต้นกล้ามะเขือเทศภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเมล็ดที่แช่ใน เซลล์แขวนลอยของ STPY0008 มีความยาวรากประมาณ 9.79 เซนติเมตร เมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอย ของ STPY0012 มีความยาวรากประมาณ 10.00 เซนติเมตร เมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของ STPY0150 มีความยาวรากประมาณ 11.15 เซนติเมตร เมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลบวมีความยาวรากประมาณ 3.85 เซนติเมตร และเมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลลบมีความยาวรากประมาณ 9.17 เซนติเมตร (ตาราง 5, ภาพประกอบ 12 – 13) ซึ่งรากของเมล็ดที่แช่ในเซลล์ยีสต์ปฏิบั้การทั้ง 3 ไสโซเลตมีความยาวไม่แตกต่าง จากตัวควบคุมให้ผลลบ ($p \geq 0.05$)

ตาราง 5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศ หลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาดเพาะ เมล็ด

การทดสอบ	ความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศ* (ซ.ม.)
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	3.85 ^a ± 0.60
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	9.17 ^b ± 0.60
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	9.79 ^b ± 0.42
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	10.00 ^b ± 1.16
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	11.15 ^b ± 0.89

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยใน คอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ ระดับนัยสำคัญ 0.05

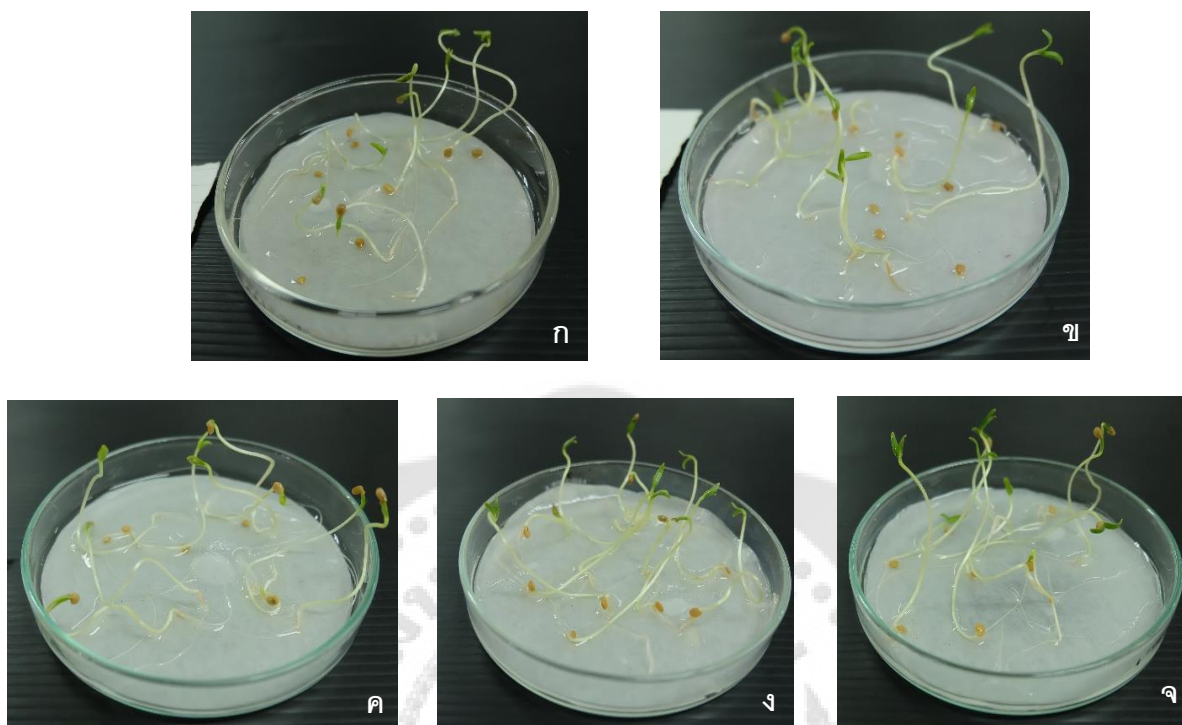
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด

เมื่อวัดความยาวลำต้นของกล้ามะเขือเทศ หลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน (ตาราง 6, ภาพประกอบ 12 – 13) พบว่าเมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของ STPY0008 STPY0012 และ STPY0150 มีความยาวลำต้นประมาณ 7.51, 7.44 และ 7.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนเมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลลบ และตัวควบคุมให้ผลบวกมีความยาวลำต้นประมาณ 3.35 และ 7.14 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งความยาวลำต้นกล้าที่แช่ในเซลล์ยีสต์ปฏิบั้การทั้ง 3 ไส้หลอดมีความยาวไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

ตาราง 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด

การทดสอบ	ความยาวลำต้นของต้นกล้ามะเขือเทศ* (ซ.ม.)
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	3.35 ^a ± 0.37
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	7.14 ^b ± 0.30
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	7.51 ^b ± 0.41
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	7.44 ^b ± 0.23
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	7.76 ^b ± 0.26

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพประกอบ 12 ผลของยีสต์ปฏิชีวนะต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศหลัง
 เพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันบนกระดาษเพาะเมล็ด (ก) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น (ข) *F. oxysporum*
 + แคปแทน (ค) *F. oxysporum* + STPY0008 (ง) *F. oxysporum* + STPY0012 และ (จ) *F.*
oxysporum + STPY0150



ภาพประกอบ 13 ผลของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นของต้นกล้า

มะเขือเทศหลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันบนกระดาษเพาะเมล็ด (ก) *F. oxysporum* + STPY0150

(ข) *F. oxysporum* + STPY0008 (ค) *F. oxysporum* + STPY0012 (ง) *F. oxysporum* +

แคปแทน และ (จ) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น

5. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นมะเขือเทศ เมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

เมื่อคัดเลือกเมล็ดมะเขือเทศที่มีแรดิเคิล (radicle) งอกออกมา หลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 3 วัน มาแช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลต (STPY0008 STPY0012 และ STPY0150) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วพักทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาแช่ในคอนิเดียแขวนลอยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาเพาะในกระถางปลูกเป็นเวลา 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับเมล็ดมะเขือเทศที่ทดสอบด้วยน้ำกลั่น และแคปแทน ได้ผลการทดลอง ดังนี้

5.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

จากการทดลองพบว่าเมล็ดที่แช่เซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์ STPY0008 STPY0012 และ STPY0150 งอกได้ทุกเมล็ด (ร้อยละการงอกเท่ากับ 100) ส่วนเมล็ดที่แช่ในตัวควบคุมให้ผลลบมีร้อยละ

การงอกเท่ากับ 66.67 และเมล็ดที่แช่ในตู้ควบคุมให้ผลบวกร้อยละการงอกเท่ากับ 98.90 โดยยีสต์ปฏิกรณ์มีร้อยละการงอกไม่แตกต่างจากตู้ควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 7)

ตาราง 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิกรณ์ต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

การทดสอบ	ร้อยละการงอกของเมล็ดมะเขือเทศ
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	66.67 ^a ± 3.33
<i>F. oxysporum</i> + แคลแพน	98.90 ^b ± 1.90
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	100 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	100 ^b ± 0

ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

5.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิกรณ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศหลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

เมื่อวัดความยาวรากต้นกล้ามะเขือเทศหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน (ตาราง 8, ภาพประกอบ 14 – 15) พบว่าความยาวรากจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0008 มีความยาวรากประมาณ 9.10 เซนติเมตร เมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0012 มีค่าประมาณ 9.67 เซนติเมตร เมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0150 มีค่าประมาณ 10.41 เซนติเมตร ความยาวรากจากเมล็ดที่แช่ในตู้ควบคุมให้ผลลบมีค่าประมาณ 4.36 เซนติเมตร และความยาวรากจากเมล็ดที่แช่ในตู้ควบคุมให้ผลบวกรวมมีค่าประมาณ 8.69 เซนติเมตร ซึ่งความยาวรากจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์ยีสต์ปฏิกรณ์ทั้ง 3 ไสโซเลตมีความยาวไม่แตกต่างจากตู้ควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

ตาราง 8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวรากมะเขือเทศ
หลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

การทดสอบ	ความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศ* (ซ.ม.)
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	4.36 ^a ± 0.86
<i>F. oxysporum</i> + แคลแทน	8.69 ^b ± 0.95
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	9.10 ^b ± 0.82
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	9.67 ^b ± 1.10
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	10.41 ^b ± 0.69

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

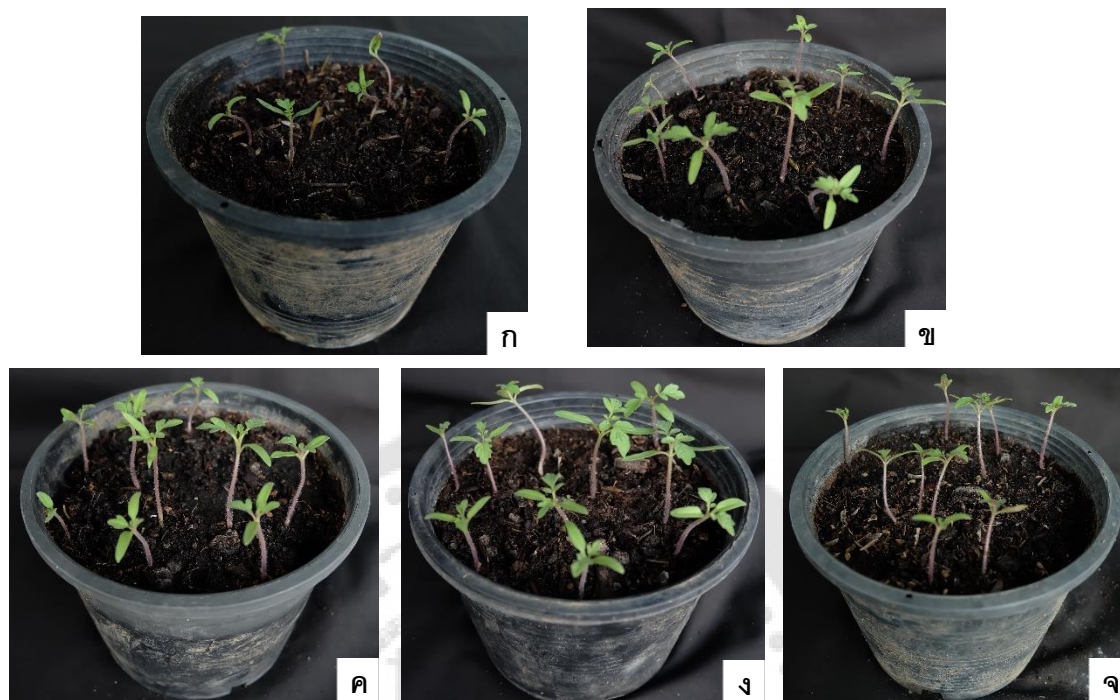
5.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้การเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

เมื่อวัดความยาวลำต้นของกล้ามะเขือเทศ หลังการเพาะเป็นเวลา 7 วัน (ตาราง 9 และภาพประกอบ 14 – 15) พบว่าความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0008 มีค่าประมาณ 8.40 เซนติเมตร ความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0012 มีค่าประมาณ 8.85 เซนติเมตร ความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ STPY0150 มีค่าประมาณ 9.08 เซนติเมตร ความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในถ้วยควบคุมให้ผลบวามีค่าประมาณ 2.83 เซนติเมตร และความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในถ้วยควบคุมให้ผลลบมีค่าประมาณ 7.70 เซนติเมตร ซึ่งความยาวลำต้นจากเมล็ดที่แช่ในเซลล์ยีสต์ปฏิบั้การทั้ง 3 ไส้หลอดมีความยาวไม่แตกต่างจากถ้วยควบคุมให้ผลลบ ($p \geq 0.05$)

ตาราง 9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวลำต้นมะเขือเทศ
หลังการงอกเมื่อแช่เมล็ดในคอนิเดียแขวนลอยของ *F. oxysporum* แล้วเพาะในกระถางปลูก

การทดสอบ	ความยาวลำต้นของต้นกล้ามะเขือเทศ* (ซ.ม.)
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	2.83 ^a ± 0.18
<i>F. oxysporum</i> + captan	7.70 ^b ± 0.98
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	8.40 ^b ± 1.02
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	8.85 ^b ± 1.18
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	9.08 ^b ± 1.20

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยใน
คอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่
ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพประกอบ 14 ผลของยีสต์ปฏิชีวน์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ
 หลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วันในกระถางปลูก (ก) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น (ข) *F. oxysporum*
 + แคลแพน (ค) *F. oxysporum* + STPY0008 (ง) *F. oxysporum* + STPY0012 และ (จ) *F.*
oxysporum + STPY0150



ภาพประกอบ 15 ผลของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวราก และลำต้นของต้นกล้ามะเขือเทศหลังการเพาะเป็นเวลา 7 วันในกระถางปลูก (ก) *F. oxysporum* + STPY0008 (ข) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น (ค) *F. oxysporum* + STPY0150 (ง) *F. oxysporum* + STPY0012 (จ) *F. oxysporum* + แคลแพน

6. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศ

เมื่อนำยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไส้เซลล์ (STPY0008, STPY0012 และ STPY0150) มาทดสอบหาความสามารถในการยับยั้งความรุนแรงโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม บนลำต้นของมะเขือเทศ โดยใส่เซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์บนรอยแผล และหยดคอกินีเดียแขวนของรา *F. oxysporum* ลงบนรอยแผล หลังจากเซลล์แขวนลอยของยีสต์ปฏิบั้กซ์แห้งแล้ว จากนั้นสังเกตผลทุก 7 วันเป็นเวลา 28 วัน และประเมินความรุนแรงโดยใช้เกณฑ์ดัดแปลงจาก Nirmaladevi; & Srinivas (2012) (ภาพประกอบ 16) พบว่าหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้กซ์บนรอยโรคเป็นเวลา 7 วัน ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไส้เซลล์มีระดับความรุนแรงระดับต่ำ (ระดับ 1.00) โดยไม่พบอาการเหี่ยว และสีเหลืองของใบ (ภาพประกอบ 19ก, 20ก และ 21ก) ในต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลลบ (ใส่น้ำกลั่น) มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.44

โดยพบอาการใบเหี่ยวมีสีเหลือง 1-2 ใบ ใบกึ่งด้านล่าง 1-2 ใบมีสีน้ำตาล (ภาพประกอบ 17ก) ส่วนต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก (ใส่แคปแทน) มีระดับความรุนแรง 1.00 คือไม่พบอาการเหี่ยว และไม่พบใบสีเหลือง (ภาพประกอบ 18ก) ซึ่งต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้ทั้ง 3 ไส้เซลล์มีระดับความรุนแรงไม่แตกต่างจากต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 10)

ตาราง 10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรค

บนต้นมะเขือเทศ

การทดสอบ	ระดับความรุนแรงของโรค*			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	1.44 ^a ± 0.11	1.78 ^a ± 0.11	3.22 ^a ± 0.29	3.89 ^a ± 0.11
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	1.00 ^b ± 0	1.00 ^b ± 0	1.11 ^b ± 0.11	1.33 ^b ± 0
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	1.00 ^b ± 0	1.11 ^b ± 0.11	1.22 ^b ± 0.11	1.44 ^b ± 0.11
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	1.00 ^b ± 0	1.11 ^b ± 0.11	1.33 ^b ± 0	1.44 ^b ± 0.11
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	1.00 ^b ± 0	1.00 ^b ± 0	1.11 ^b ± 0.11	1.33 ^b ± 0.19

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้ STPY0008 และ STPY0012 มีระดับความรุนแรงเพ่อขึ้นเล็กน้อย (ระดับ 1.11) โดยพบอาการเหี่ยว ใบที่กึ่งด้านล่าง 1-2 มีสีเหลือง (ภาพประกอบ 19ข และ 20ข) ในต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้ STPY0150 มีระดับความรุนแรงไม่เปลี่ยนแปลง (ระดับ 1.00) (ภาพประกอบ 21ข) ส่วนต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลลบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.78 โดยใบเหี่ยวเหลืองที่กึ่งด้านล่างจำนวน 3-4 ใบ และสีน้ำตาล 1-2 ใบ และกิ่งที่อยู่บนข้อที่ 2 นับจากโคนต้น มีใบเหี่ยวเหลืองจำนวน 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 17ข) ส่วนในต้นที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวกมีระดับความรุนแรงไม่เปลี่ยนแปลง (ระดับ 1.00) (ภาพประกอบ 18ข) ต้นมะเขือเทศที่

ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระทั้ง 3 ไอโซเลตมีระดับความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างจากต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 10)

หลังจากใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระเป็นเวลา 21 วัน พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0008 มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย (ระดับ 1.22) โดยที่กิ่งด้านล่างพบอาการใบเหี่ยวเหลือง 3-4 ใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมา 1 ข้อพบใบสีเหลืองจำนวน 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 19ค) ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0012 มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย (ระดับ 1.33) โดยที่กิ่งด้านล่างพบอาการเหี่ยวเหลืองจำนวน 3-4 ใบ ใบสีน้ำตาล 1-2 ใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมา 1 ข้อพบใบสีเหลืองจำนวน 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 20ค) และต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0150 มีระดับความรุนแรงแตกต่างจากเดิมเล็กน้อย (ระดับ 1.11) โดยพบอาการเหี่ยวเหลืองจำนวน 1-2 ใบที่กิ่งด้านล่าง (ภาพประกอบ 21ค) ต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลลบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.22 โดยพบอาการสีน้ำตาลของใบที่กิ่งด้านล่างทุกใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมาใบมีสีน้ำตาล 3-4 ใบ (ภาพประกอบ 17ค) ส่วนต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวกมีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ระดับ 1.11) โดยพบอาการเหี่ยว ใบมีสีเหลืองจำนวน 1-2 ใบที่กิ่งด้านล่าง (ภาพประกอบ 18ค) ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระทั้ง 3 ไอโซเลตมีระดับความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างจากต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 10)

เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0008 มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.44 โดยที่กิ่งด้านล่างพบอาการใบเหี่ยวมีสีน้ำตาลจำนวน 1-2 ใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมา 1 ข้อ พบใบสีเหลือง 3-4 ใบ และสีน้ำตาล 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 19ค) ในต้นที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0012 มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.44 โดยอาการที่พบมีลักษณะเช่นเดียวกับต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0008 (ภาพประกอบ 20ค) ต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระ STPY0150 มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.33 โดยที่กิ่งด้านล่างพบอาการเหี่ยวมีสีเหลืองจำนวน 3-4 ใบ สีน้ำตาล 1-2 ใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมา 1 ข้อพบใบสีเหลืองจำนวน 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 21ค) ต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลลบมีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นจากเดิมมาก (ระดับ 3.89) โดยพบใบที่กิ่งด้านล่างทุกใบมีสีน้ำตาล เริ่มหลุดร่วง และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมาใบมีสีน้ำตาลทั้งหมด ใบบนกิ่งที่ข้อถัดขึ้นมาอีกเริ่มมีสีเหลือง (ภาพประกอบ 17ค) ส่วนต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวกมีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.33 โดยที่กิ่งด้านล่างมีใบเหี่ยวเหลืองจำนวน 3-4 ใบ สีน้ำตาลจำนวน 1-2 ใบ และกิ่งบนข้อที่ถัดขึ้นมา 1 ข้อพบใบสีเหลืองจำนวน 1-2 ใบ (ภาพประกอบ 18ค) ส่วนต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบักระทั้ง 3 ไอโซเลตมีระดับความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างจากต้นมะเขือเทศที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$) (ตาราง 10)

เมื่อนำต้นมะเขือเทศที่ปลูกในเรือกทดลอง เป็นเวลา 28 วัน มาตัดตามยาวเพื่อตรวจดูโครงสร้างของของท่อลำเลียงภายในลำต้นพบว่าลำต้นที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้ทั้ง 3 ไอโซเลตไม่พบเส้นใยราภายในลำต้น (ภาพประกอบ 22ค-22จ) ไม่แตกต่างจากต้นที่เป็นตัวควบคุมให้ผลบวก (ภาพประกอบ22ข) ส่วนภายในลำต้นที่เป็นตัวควบคุมให้ผลลบพบเส้นใยราเป็นจำนวนมาก (ภาพประกอบ22ก)



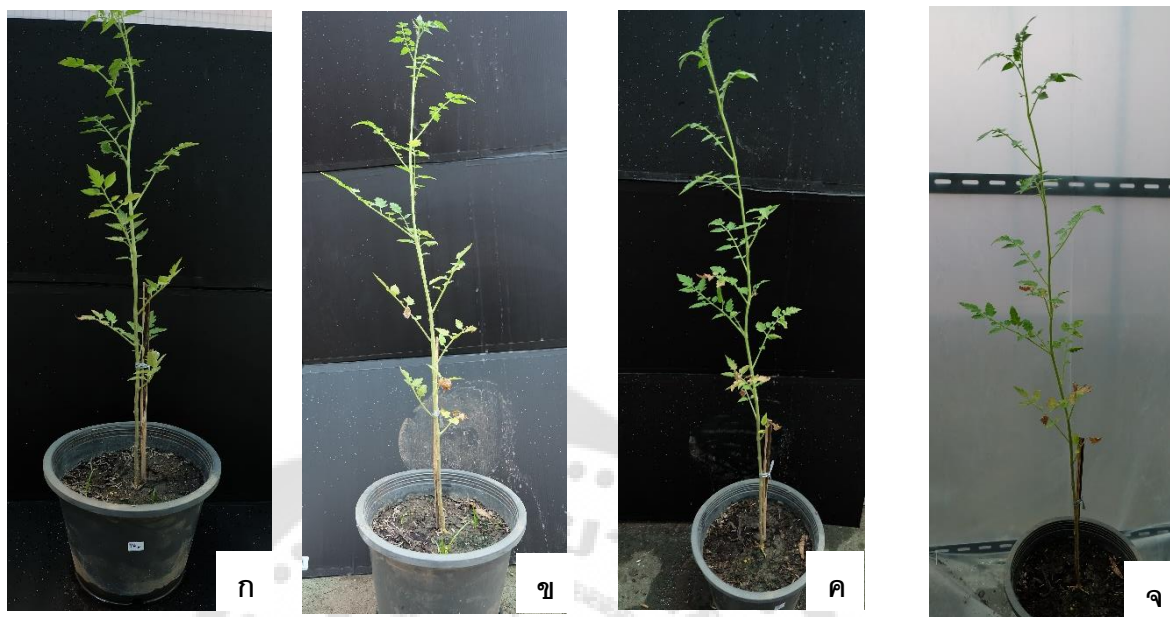
ภาพประกอบ 16 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศจาก (ก) ระดับต่ำสุด (1.00) ไปหา (จ) ระดับสูงสุด (ระดับ5)



ภาพประกอบ 17 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศหลังใส่น้ำกลั่น (ตัวควบคุมให้ผลลบ) และคณิเดียแวนลอยของราก่อโรคที่รอยแผลเป็นเวลา (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) 21 วัน และ (ง) 28 วัน



ภาพประกอบ 18 ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศหลังใส่แคปแทน (ตัวควบคุมให้ผลบวก) และคอนิเดียมแวลอยของราก่อโรคบนรอยแผลเป็นเวลา (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) 21 วัน และ (ง) 28 วัน



ภาพประกอบ 19 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิปักษ์ STPY0008

และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผลเป็นเวลา (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) 21 วัน และ (ง) 28 วัน



ภาพประกอบ 20 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิปักษ์ STPY0012

และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผลเป็นเวลา (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) 21 วัน และ (ง) 28 วัน



ภาพประกอบ 21 ระดับความรุนแรงของโรคบนต้นมะเขือเทศหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิชีวนะ STPY0150

และคอนิเดียแขวนลอยของราก่อโรคบนรอยแผลเป็นเวลา (ก) 7 วัน (ข) 14 วัน (ค) 21 วัน และ (ง)
28 วัน



ภาพประกอบ 22 ลำต้นมะเขือเทศตัดตามยาวหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบััษ และคอนิเดียแขวนลอยของ ราก่อโรคบนรอยแผล เป็นเวลา 28 วัน (ก) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น (ข) *F. oxysporum* + แคปแทน (ค) *F. oxysporum* + STPY0008 (ง) *F. oxysporum* + STPY0012 และ (จ) *F. oxysporum* + STPY0150

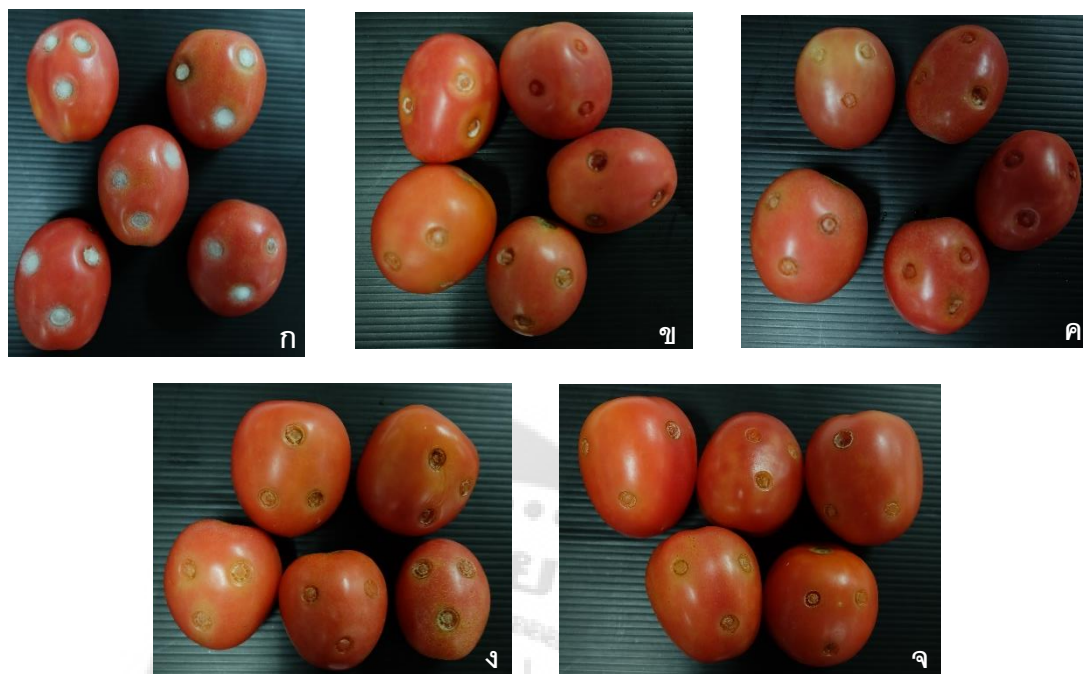
7. การทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบััษต่อการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศ

เมื่อนำยีสต์ปฏิบััษทั้ง 3 ไอโซเลต (STPY0008, STPY0012 และ STPY0150) มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนผลมะเขือเทศ (ตาราง 11) พบว่าภายหลังจากบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ยีสต์ปฏิบััษทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ไม่แตกต่างจากกับแคปแทน (ตัวควบคุมผลบวก) ($p \geq 0.05$) โดยไม่พบพื้นที่ของรอยโรคบนผลมะเขือเทศที่ใส่ยีสต์ปฏิบััษทั้ง 3 ไอโซเลต (ภาพประกอบ 23) และเมื่อนำจำนวนรอยแผลที่เกิดโรคมาคำนวณร้อยละของการเกิดโรค พบว่า ร้อยละของการเกิดโรคเป็น 0 หรือไม่มีการเจริญของราบนรอยแผลที่ทำขึ้นบนผลมะเขือเทศ

ตาราง 11 จำนวนผลมะเขือเทศที่เกิดโรค และร้อยละของการเกิดโรคหลังใส่โคนิเดียราก่อโรค
บ่มที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การทดสอบ	จำนวนรอยแผลที่เกิดโรค*	ร้อยละของการเกิดโรค*
<i>F. oxysporum</i> + น้ำกลั่น	$15^a \pm 0$	$100^a \pm 0$
<i>F. oxysporum</i> + แคปแทน	$0^b \pm 0$	$0^b \pm 0$
<i>F. oxysporum</i> + STPY0008	$0^b \pm 0$	$0^b \pm 0$
<i>F. oxysporum</i> + STPY0012	$0^b \pm 0$	$0^b \pm 0$
<i>F. oxysporum</i> + STPY0150	$0^b \pm 0$	$0^b \pm 0$

*ค่าเฉลี่ยมาจากการทดลองที่เป็นอิสระกัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพประกอบ 23 ผลมะเขือเทศหลังใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบััษ และคอนิเดียราบนรอยแผล บ่มที่ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (ก) *F. oxysporum* + น้ำกลั่น (ข) *F. oxysporum* + แคปแทน (ค) *F. oxysporum* + STPY0008 (ง) *F. oxysporum* + STPY0012 และ (จ) *F. oxysporum* + STPY0150

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของยีสต์ปฏิบั้กซ์ที่แยกได้จากธรรมชาติ เพื่อควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวพืชาวรีมโนมะเขือเทศ (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) ในระดับห้องปฏิบัติการและผลผลิตที่ได้จากการเก็บเกี่ยวโดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมให้ผลลบคือ น้ำกลั่น และตัวควบคุมให้ผลบวก คือ แคปแทน ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดรานี้ในแปลงปลูก ได้ผลสรุป ดังนี้

1. แยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ 13 ชนิด ได้ทั้งหมด 160 ไอโซเลต แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของราด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์ และสปอร์ราบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เจาะหลุมตรงกลาง (well test) สามารถแยกยีสต์ปฏิบั้กซ์จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ STPY0008 ที่แยกได้จากเปลือกมะม่วง STPY0012 และ STPY0150 ที่แยกได้จากแอปเปิ้ล ซึ่งยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของรานิดนี้ได้อย่างน้อยร้อยละ 50 จึงคัดเลือกยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตนี้เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

2. เมื่อนำยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมาตรวจด้วยวิธีทางชีวเคมี พบว่า ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมีสมบัติทางชีวเคมีเหมือนกับยีสต์ *Candida krusei* โดย STPY0008 และ STPY0012 มีความเหมือนร้อยละ 97.6 ส่วน STPY0150 มีความเหมือน 99 %

3. ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลต (STPY0008, STPY0012 และ STPY0150) ที่ความเข้มข้น 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ที่ความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตรได้ร้อยละ 100 ซึ่งไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวกบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ($p \geq 0.05$)

4. ผลของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ เมื่อเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน พบว่า มีร้อยละการงอกของเมล็ดเท่ากับ 100 ซึ่งไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก (ร้อยละการงอกเท่ากับ 98.89) ($p \geq 0.05$) และยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตให้ผลการยับยั้งรานี้ทั้งหมด ทำให้ความยาวของรากและลำต้นแตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลลบ ($p < 0.05$) และไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

5. ผลของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ เมื่อเพาะในกระถางปลูกเป็นเวลา 7 วัน พบว่า มีร้อยละการงอกของเมล็ดเท่ากับ 100 ไม่แตกต่างจากตัว

ควบคุมให้ผลบวก (ร้อยละ 98.90) ($p \geq 0.05$) และยีสต์ทั้ง 3 ไอโซเลตให้ผลการยับยั้งราทั้งหมด ทำให้ความยาวของรากและลำต้นแตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลลบ ($p < 0.05$) และไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

6. จากการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวพืชาวาเรียนบนต้นมะเขือเทศ โดยประเมินความรุนแรงของโรคด้วยวิธีดัดแปลงจาก Nirmaladevi & Srinivas (2012) ทุก 7 วันหลังใส่เชื้อที่รอยแผล เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 1.00 – 1.44 โดยต้นมะเขือเทศที่ใส่เซลล์ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างจากตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

7. จากการทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ต่อการยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวพืชาวาเรียนบนผลมะเขือเทศพบว่าหลังใส่ยีสต์ปฏิบั้กซ์ และคอนิเดียของราบนรอยแผลของผลมะเขือเทศเป็นเวลา 7 วันไม่พบรอยโรคบนมะเขือเทศ คิดเป็นร้อยละการเกิดโรคเท่ากับศูนย์ ไม่แตกต่างจากรอยแผลบนผลมะเขือเทศที่ให้ตัวควบคุมให้ผลบวก ($p \geq 0.05$)

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการแยกยีสต์จากเปลือกผลไม้ 13 ชนิดได้ยีสต์ทั้งหมด 160 ไอโซเลต ซึ่งยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบได้มากในธรรมชาติสามารถปะปนอยู่ได้ทั้งใน น้ำ ดิน อากาศ และพืช โดยเฉพาะแหล่งที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเช่น ผลไม้ที่มีรสหวาน น้ำผลไม้ (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2549: 6) เมื่อนำยีสต์ดังกล่าวมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* ด้วยวิธีเพาะเชื้อร่วมกันระหว่างเซลล์ยีสต์และสปอร์ราบนอาหารวุ้นแข็ง PDA ที่เจาะหลุมตรงกลางเพื่อคัดเลือกยีสต์ปฏิบั้กซ์พบว่า มียีสต์ 3 ไอโซเลต คือ STPY0008 ที่แยกได้จากเปลือกกะมุด STPY0012 และ STPY0150 ที่แยกได้จากแอปเปิ้ลสามารถยับยั้งการเจริญของราชนิดนี้ได้อย่างน้อยร้อยละ 50 สอดคล้องกับงานวิจัยของ อรุณ ชาญชัยชาววิวัฒน์ และ จุริมาศ วงศ์ศรีรัตน์ (2552: 120–131) ที่ใช้วิธีดังกล่าวทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิบั้กซ์ ที่แยกได้จากผักผลไม้ในประเทศไทยได้แก่ยีสต์ *Pichia guilliermondii* R13 และ *Issatchenkia orientalis* ER1 ซึ่งสามารถควบคุมโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ที่เกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้มากกว่าร้อยละ 80

เมื่อนำยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมาตรวจด้วยวิธีทางชีวเคมี พบว่า ยีสต์ปฏิบั้กซ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมีสมบัติทางชีวเคมีเหมือนกับยีสต์ *C. krusei* ซึ่งมีรายงานว่า ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถยับยั้งการ

เจริญของรา *Fusarium guttiforme* ซึ่งเป็นราก่อโรคเน่าในสับปะรด (pineapple fusariosis) บนอาหารวุ้นแข็ง PDA และยับยั้งการงอก germ tube ได้ร้อยละ 36.5 โดยยีสต์ *C. krusei* เป็น hyperparasitism กับ *F. guttiforme* และมีฤทธิ์เป็น mycocinogenic (Korres; et al., 2011:1251–1258) และ *C. krusei* เป็นระยะ imperfect state ของ *I. orientalis* (Kreg-van Rij. 1984: 728) ซึ่งมีการรายงานว่า *I. orientalis* สามารถยับยั้งการเจริญของราได้หลายชนิดเช่น *Aspergillus carbonarius* *A. niger* เป็นราก่อโรคบนผลองุ่น (Bleve; et al. 2006: 204–209) *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นราก่อโรคแอนแทรกคโนส (anthracnose) ในพริก (Chanchaichaovivat; Ruenwongsa; & Panijpan. 2007:326–325) เป็นต้น

เมื่อนำยีสต์ปฏิบั้ทั้ง 3 ไอโซเลตมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรา *F. oxysporum* บนอาหารวุ้นแข็ง PDA พบว่ายีสต์ปฏิบั้ทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ทั้งหมด ซึ่งไม่แตกต่างจากแคลแทน ($p \geq 0.05$) สอดคล้องกับประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญของราสีน้ำตาลในแอปเปิลที่มีสาเหตุจาก *Penicillium expansum* ด้วยยีสต์ปฏิบั้ *Rhodotorula mucilaginosa* และ *P. guilliermondii* ที่แยกได้จากธรรมชาติ บนอาหารวุ้นแข็ง PDA (Gholamnejad; et al. 2009: 28–36) ซึ่งยีสต์มีกลไกในการลดการเจริญของราก่อโรคในพืชหลายรูปแบบทั้งการแก่งแย่งอาหาร (competition for nutrient) การสร้างเอนไซม์ไฮโดรไลติก (hydrolytic enzyme) และสารปฏิชีวนะ (antibiotics) การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (induction of plant host defense mechanisms) และสร้างปัจจัยการรบกวนในการเกิดโรค (interference with pathogenicity factors) (Punja; & Utkhede. 2003: 400–407)

เมื่อนำยีสต์ปฏิบั้ทั้ง 3 ไอโซเลตมาทดสอบประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดมะเขือเทศทั้งบนกระดาษเพาะ และในกระถางปลูกพบว่า เมล็ดที่จุ่มในเซลล์แขวนลอยของยีสต์งอกได้ทั้งหมดซึ่งแตกต่างจากเมล็ดในกลุ่มควบคุมให้ผลลบ (น้ำกลั่น) มีร้อยละการงอกเพียง 82.22 (บนกระดาษเพาะ) และ 66.67 (ในกระถางปลูก) การเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศในด้านความยาวรากและลำต้นมีแตกต่างจากกลุ่มควบคุมให้ผลลบ ทั้งบนกระดาษเพาะ และในกระถางปลูก แสดงให้เห็นว่ายีสต์ปฏิบั้สามารถช่วยป้องกันการเข้าทำลายของราก่อโรคได้ และยีสต์นี้ไม่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ จึงสามารถนำไปใช้ในการปฏิบัติงานจริงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Akhtyamova ;& Sattarova (2013: 1–5) ที่ได้แช่เมล็ดแตงกวาในน้ำกลั่นที่มียีสต์ *Rhodotorula*

rubra strain TG-1 (แยกได้จากเนื้อเยื่อของข้าวในประเทศอุซเบกิสถาน) นาน 2 ชั่วโมง นำมาทำให้แห้ง และแช่ในน้ำกลั่นที่มีสปอร์รา *Fusarium* spp. จากนั้นนำมาเพาะ พบว่า มีการงอกเท่ากับร้อยละ 100 และเมื่อสังเกตรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ไม่พบการปนเปื้อนของราก่อโรค อีกทั้งเมล็ดยังงอกเป็นต้นกล้าสมบูรณ์ต่างจากเมล็ดที่เป็นกลุ่มควบคุม (แต่เฉพาะในน้ำกลั่นที่มีสปอร์ของราก่อโรค) เช่นเดียวกับ *Streptomyces griseus* ที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมได้ โดยใช้เมล็ดมะเขือเทศจุ่มใน *S. griseus* ในสภาวะต่าง ๆ แล้วเพาะเป็นเวลา 60 วัน ประเมินความรุนแรงของโรคพบว่าเมล็ดที่แช่ใน *S. griseus* มีร้อยละความรุนแรงของโรคเท่ากับ 21.10 เมล็ดที่แช่ *S. griseus* ร่วมกับไคตินมีร้อยละความรุนแรงของโรคเท่ากับ 23.07 แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจากรา *F. oxysporum* หากเพิ่มการป้องกันให้กับเมล็ดก่อนปลูก จะช่วยป้องกันพืชจากราก่อโรคได้ (Anitha; & Rabeeth. 2009: 9–14)

ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไส้หลอดสามารถลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นมะเขือเทศได้โดยมีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 1.00–1.44 และให้ผลไม่แตกต่างจากแคลแพนซึ่งเป็นสารเคมีในการกำจัดราก่อโรคที่นิยมใช้ในแปลงปลูก และเมื่อตัดลำต้นตามยาวไม่พบกลุ่มเส้นใยราในท่อลำเลียง แตกต่างจากกลุ่มควบคุมให้ผลลบที่พบกลุ่มเส้นใยราเป็นจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่ายีสต์ปฏิปักษ์นี้สามารถป้องกันราก่อโรคเหี่ยวผ่านเข้าลำต้นทางรอยแผลได้ การใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชนั้นนอกเหนือจากยีสต์แล้ว ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากลำต้นของต้นยาสูบเล็ก (*Nicotiana glauca*) คือ *Alcaligenes faecalis* S18 และ *Bacillus cereus* S42 สามารถลดความรุนแรงของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในต้นมะเขือเทศได้ร้อยละ 94 และร้อยละ 88 ตามลำดับ และลดอาการสีน้ำตาลของท่อลำเลียง (vascular browning) ได้ร้อยละ 95 และร้อยละ 97.5 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (Abdallah; et al. 2016: 80–88)

ยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไส้หลอดสามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศได้ทั้งหมด เมื่อใส่เซลล์ของยีสต์ปฏิปักษ์พร้อมกับคอนิเดียของราบนรอยแผลบนผลมะเขือเทศ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ใส่เฉพาะคอนิเดียของรา) ที่เห็นรอยโรคชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ สรวงสวรรค์ เนียมแจ้ง (2549:1–78) พบว่ายีสต์ปฏิปักษ์ 4 ชนิดได้แก่ *Candida utilis*, *C. tropicalis*, *Pichia* sp. และ *Debaryomyces hansenii* สามารถยับยั้งรา *Penicillium digitatum* บนผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งได้ทั้งหมด และมีรายงานว่ายีสต์ปฏิปักษ์ *Cryptococcus laurentii* (strain 317) และ *Candida ciferrii* (strain 283) ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกจากผิวแอปเปิ้ลสามารถลดอัตราการเกิดโรคราสีน้ำเงินบนผลแอปเปิ้ล

จาก *P. expansum* ได้ถึงร้อยละ 80 (Vero; et al. 2002: 91–98) ยีสต์ *P. guilliermondii* ที่แยกได้จากเงาะสามารถยับยั้งรา *Colletotrichum capsici* ซึ่งเป็นราก่อโรคในผลพริกได้ (Nantawanit; et al. 2010: 145–152) และในการศึกษาชีววิธีควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวของ Chalutz; & Wilson. (1989: 134–137) พบว่ายีสต์ *Debaryomyces hansenii* ที่แยกได้จากผิวมะนาว สามารถยับยั้งการเกิดของโรคราสีเขียว (green mold) ของพืชตระกูลส้มได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ 11°C นาน 21 วัน ทั้งนี้เนื่องจากยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้อย่างรวดเร็ว จึงสามารถแพร่กระจายครอบคลุมผิวส่วนต่าง ๆ ของพืชได้เร็ว ช่วยป้องกันการบุกรุกเข้าทำลายของราก่อโรค (Parveen; et al. 2016: 41–66) จากความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคของยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไส้หลอดนี้ จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการควบคุมโรคบนผลมะเขือเทศหลังการเก็บเกี่ยว

ราก่อโรคเหี่ยวพืชาวินิจฉัยเป็นราที่เจริญในดิน germ tube ของสปอร์ หรือเส้นใยราจะเข้าสู่พืชทางปลายรากหรือทางแผล ผ่านท่อลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช เกิดเป็นเป็นไทโลส (tylose) อุดตันท่อลำเลียงน้ำ พืชจึงเกิดอาการเหี่ยว (Agrios. 1969: 288–295) ดังนั้นการป้องกันการเข้าทำลายของราก่อโรคเหี่ยวพืชาวินิจฉัยด้วยยีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไส้หลอดจึงเป็นวิธีการที่สำคัญ และในงานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายีสต์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไส้หลอดนี้สามารถควบคุมการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวพืชาวินิจฉัย และลดระดับความรุนแรงของโรคนี้ได้เป็นอย่างดี จึงสามารถนำไปใช้ทดแทนสารเคมีในการป้องกันหรือกำจัดราในทุกๆระยะของการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ ซึ่งจะช่วยลดสารพิษตกค้างในผลผลิต ลดมลพิษที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และทำให้เกิดความปลอดภัยกับเกษตรกรและผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาครั้งนี้ระบุชนิดพันธุ์ของยีสต์ปฏิปักษ์ด้วยวิธีทางชีวเคมี ควรนำยีสต์ปฏิปักษ์ดังกล่าวไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคในระดับโมเลกุล เพื่อเป็นหลักฐานยืนยันชนิดของยีสต์เพิ่มเติม
2. ควรนำยีสต์ปฏิปักษ์ไปทดสอบกับต้นมะเขือเทศในระดับแปลงปลูกเพื่อประยุกต์ใช้งานจริง และเผยแพร่ให้เกษตรกรนำไปใช้ต่อไป
3. ควรนำยีสต์ปฏิปักษ์ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งรา *F. oxysporum* ในพืชชนิดอื่น



บรรณานุกรม

- ขจรพรรณ รักผล. (2555). ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ *Acanthaceae* ต่อการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในมะเขือเทศ. ปรินูญานินพนธ์ กศ.ม. (ชีววิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร
- เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. (2559). รายงานผลการสุ่มตรวจสารพิษตกค้างในผักและผลไม้ ครั้งที่ 2/2559. หน้า 1 – 17.
- จามรวัชร์ ขนบดี. (2541). การผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- นิพนธ์ ไชยมงคล. (2526): มะเขือเทศ. เชียงใหม่. ภาควิชาเทคโนโลยีทางพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้, เชียงใหม่.
- นิพนธ์ ทวีชัย. (2553). โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. ในสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. (เล่มที่ 35, หน้า 129–159). กรุงเทพฯ : โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. (2546). จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นุกูล อินทระสังขา. (2551). วิทยาเชื้อรา. สงขลา: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
- ฝากจิต (ปาลินทร) ลาภจิตร. (2557). ปัญหาและความต้องการในการผลิตมะเขือเทศสีดาของเกษตรกรในจังหวัดนครราชสีมา. แก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 3: 894–898.
- พระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร (2550, 29 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอน 78 ง หน้า 1–19.
- พเยาว์ อินทสุวรรณ. (2552). อนุกรมวิธานพืช. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ไพโรจน์ จ้วงพานิช. (2525). หลักวิชาโรคพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- มณีจันทร์ นิกรพันธุ์. (2538). มะเขือเทศ. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรินต์ติ้งเฮาส์.
- โรคใบจุดของมะเขือเทศ (Leaf spot). (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก <http://www.thaikasetsart.com/โรคทางใบมะเขือเทศ>.

โรคใบจุดสีน้ำตาล (early blight). (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/PotatoTomato.aspx>.

โรคใบไหม้ (Late blight). (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

<http://thescientistgardener.blogspot.com/2009/07/outbreak-of-potato-famine-pathogen.html>.

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial wilt). (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

http://chaleeprom.com/plantdisease/doku.php/user/ant121/ant121-job_scab_06.

โรคเหี่ยวที่เกิดจากรา *Sclerotium*. (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

<http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1568117>.

โรคเหี่ยวที่เกิดจาก *Fusarium*. (2558). สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2558, จาก

<file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrator/My%20Documents/Downloads/PM1266.pdf>.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. (2537). *โรคของผักและการป้องกันกำจัด*. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เชียงใหม่.

สรวงสวรรค์ เนียมแจ้ง. (2549). *การคัดเลือกและเพิ่มประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิชีวนะในการควบคุมโรคราสีเขียว (*Penicillium digitatum*) บนผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง*. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (โรคพืช). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.

สาวิตรี ลิ้มทอง. (2549): *ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2549). *ยีสต์ คุณประโยชน์ในอุตสาหกรรม*. กรุงเทพฯ: สเปเชียลไบโอเทค.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2558). *สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2558*. กรุงเทพฯ: สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

แสงโสม ศิริพานิช. (2556). *สถานการณ์และผลต่อสุขภาพจากการสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปี พ.ศ. 2556*. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำ สัปดาห์; 44: 689–92.

สมพงษ์ บัวแย้ม. (2558). *ผักสวนครัวรั้วเกษตรทำเงิน*. กรุงเทพฯ: ทานตะวัน.

สมศิริ แสงโชติ. (2532). *โรคของพืชเศรษฐกิจ*. กรุงเทพฯ: ชื่องนนทรี.

อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์ และจรีมาศ วงศ์ศรีรัตน์. (2552) การควบคุมโรคแอนแทรกโนสในพริกชี้ฟ้า (*Collectotrichum gloeosporioides*) โดยยีสต์ที่แยกได้จากผักและผลไม้. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์* (1): 120–131.

อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์. (2553). การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้* (1): 46–53.

อรุณ ชาญชัยเชาววิวัฒน์. (2558): ยีสต์และเทคโนโลยีของยีสต์. กรุงเทพฯ: ก้าวไทยแอดเวอร์ไทซิ่ง.

Abraham, O. A., Laing, D. M., and Bower, J. P., (2010). Isolation and *in vivo* screening of yeast and *Bacillus* antagonists for the control of *Penicillium digitatum* of citrus fruit. *Biological Control* 53 (1): 32–38.

Abdallah, R. A. B., Tlili, S. M., Nefzi, A., Khiareddine, H. J., and Remadi, M. D. (2016). Biocontrol of *Fusarium* wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs. *Biological control* 97: 80-88.

Agrios N. G. (1969). *Plant Pathology*. New York : Academic press.

Akhtyamova, N., and Sattarova, R. K., (2013). Endophytic yeast *Rhodorula rubra* strain TG-1: Antagonistic and plant protection activities. *Biochemistry & Physiology* 2 (1):1-5.

Anitha, A., and Rabeeth, M. (2009). Control of *Fusarium* wilt of tomato by bioformulation of *Streptomyces griseus* in green house condition. *African journal of basic & applied science* 1 (1–2): 9–14.

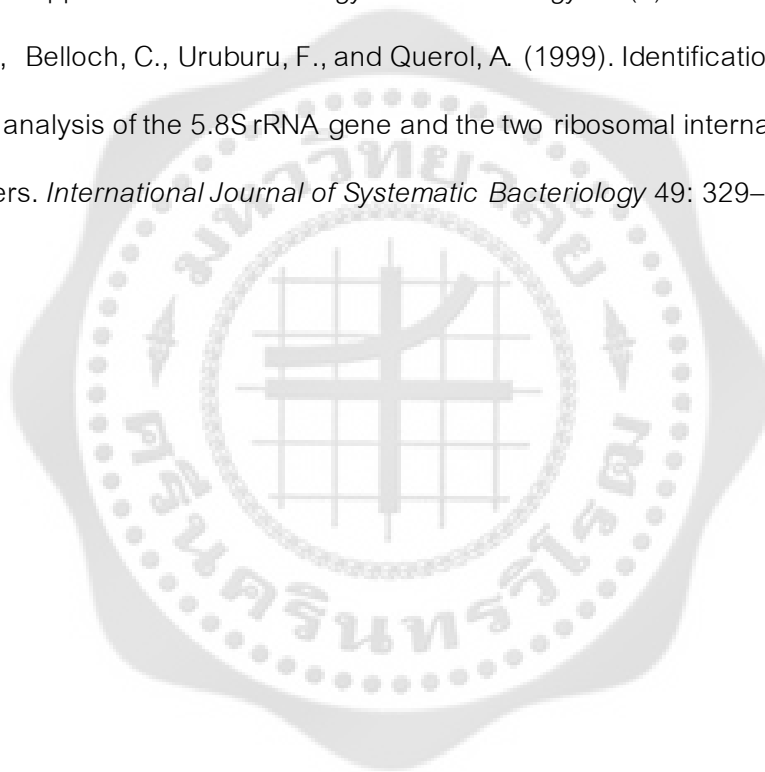
Bleve, G., Grieco, F., Cozzi, G., Logrieco, A., and Visconti, A., (2006). Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. *International Journal of Food Microbiology* 108 (2): 204–209.

Chalutz, E., and Wilson, C.L., (1989). Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hanseneii*. *Plant disease* 74 (2): 134–147.

Chan, Z., and Tian, S. (2005). Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biology and Technology* 36: 215–223.

- Chanchaichaovivat, A., Reunwongsa, P., and Panijpan, B., (2007). Screening and identification of yeasts strains from fruits and vegetable: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotricum capsici*). *Biological Control* 42 (3): 326–335.
- Chehri, K. (2015). First report of postharvest fruit rots of tomato caused by *Fusarium oxysporum* in Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 48 (6): 537–544.
- Evans, I.H., (1996). *Yeast Protocols: Methods in Cell and Molecular Biology*. London: Human Press.
- Gholamnejad, J., Etebarian, H. R., Sahebani, N.A., and Roustae, A. (2009). Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Iran against Blue Mould of Apple in order to reduce the environmental pollution. *Journal of International Environmental Application & Science* 1 (1): 28–36.
- Korres, A. M. N., Buss, D. S., Ventura, J. A., and Fernandes, P. M. B., (2011). *Candida krusei* and *Kloeckera apis* inhibit the causal agent of pineapple fusariosis, *Fusarium guttiforme*. *Fungal Biology* 115 (12): 1251–1258.
- Kreger van Rij, N.J.W., (1984). *The yeast a taxonomic study*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. P.727–728.
- Nantawanit, N., Chanchaichaovivat, A., Panijpan, B., and Ruenwongsa, P. (2010). *Biological control* 52 (2010): 145–152.
- Nirmaladevi, D., and Srinivas, C. (2012). Cultural, Morphological, and Pathogenicity Variation in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Causing Wilt of Tomato. *Batman university journal of life science* (2): 5–9.
- Paween, A., Wani, A. H., Bhat, M. Y., and Koka, J.A. (2016). Biological control of posthvest fungal rots risaceous fruits using microbial antagoniss and plant extracts-review. *Czech Mycology* 68 (1): 41-66.

- Punja, Z.K., and Utkhede, R.S., (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends in Biotechnology* 21 (9):400–407.
- Tian, S. P., Fan, Q., Xu, Y., and Jiang, A. L. (2002). Effect of calcium on biocontrol activity of yeast antagonists against the postharvest fungal pathogen *Rhizopus stolonifer*. *Plant pathology* 51; 352–358.
- Vero, S., Mondino, P., Burgueno, J., Soubes, M., and Wisniewski, M., (2002). Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. *Postharvest Biology and Technology* 26 (1):91–98.
- Zarzoso, B.E., Belloch, C., Uruburu, F., and Querol, A. (1999). Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49: 329–337.





สูตร และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast Malt Agar (YM)

Yeast Extract	3	กรัม
Malt Extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Dextrose	10	กรัม
Agar	20	กรัม

ละลายส่วนประกอบของอาหาร ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ความร้อนช่วย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ 121 ± 1 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Yeast Malt Broth (YM)

Yeast Extract	3	กรัม
Malt Extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Dextrose	10	กรัม

ละลายส่วนประกอบของอาหาร ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ความร้อนช่วย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ 121 ± 1 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Potato Dextrose Agar (PDA)

ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตรให้มีปริมาตรสุทธิ 1,000 มิลลิลิตรโดยใช้ความร้อนช่วย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นายเกียรติศักดิ์ รักษาพล
วันเดือนปีเกิด	23 มีนาคม พ.ศ. 2529
สถานที่เกิด	อ.หนองแค จ.สระบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	30 ม.7 ต. หนองไผ่น้ำ อ.หนองแค จ. สระบุรี 18140
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2551	จบการศึกษาในระดับปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี
พ.ศ. 2559	ศึกษาในระดับปริญญาโท สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร
ผลงานวิชาการ	ได้รับรางวัลผลงานวิจัยดีเด่น กลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประเภท Oral Presentation ในการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 40
ผลงานวิชาการ	เกียรติศักดิ์ รักษาพล และสมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ. (2559). การควบคุมโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนผลมะเขือเทศโดยยีสต์ปฏิบััษที่แยกได้จากธรรมชาติ. การประชุมวิชาการเสนอผลงานระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 40, 20 – 21 ตุลาคม 2559 (หน้า 412 – 422). สงขลา: ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.