

การใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

ชนากานต์ ศรีแป้น*, พรพรรณ อุสุวรรณ , ศุภสุตา การูจี , เสาวณี คงศรี และพิทักษ์พงศ์ ป้อมปรางค์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

*chanakansripaen@gmail.com

บทคัดย่อ

โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ส่งผลกระทบรุนแรงต่อผลผลิตและคุณภาพของมะม่วงตลอดทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่ต้นกล้าจนถึงหลังการเก็บเกี่ยว แม้การใช้สารเคมีจะควบคุมโรคได้ดีในระยะสั้นแต่กลับก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างและการดื้อยาของเชื้อราในระยะยาว การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในระดับห้องปฏิบัติการโดยการใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 7 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) โดยใช้วิธี dual culture test พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 7 ไอโซเลต ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* อยู่ในช่วง 49.10-59.63 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สูงสุด คือ ไอโซเลต 2CRAO5 และ 2CRA04 มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 59.63 และ 59.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาคือไอโซเลต 2CRA02, 2CRA08, 2CRA01, 2CRF04 และ SNP3-9C04 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเฉลี่ย 55.02, 54.24, 53.72, 52.41 และ 49.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ด้วยประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. จึงเป็นตัวเลือกอีกแนวทางในการควบคุมโรคพืชแบบชีวภาพ

คำสำคัญ: *Streptomyces* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*

The Use of *Streptomyces* spp. to Inhibit *Colletotrichum gloeosporioides* the Causal Agent of Anthracnose in Mango

Chanakan Sripaen* , Pornphan Usuwan , Supasuta Karuji , Saowanee Kongsri and
Pitakpong Pompranee

Department of Plant Production Technology, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Pathom Rajabhat University

*chanakansripaen@gmail.com

Abstract

Anthracnose disease in mango, caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, severely affects both yield and quality of mangoes throughout all stages of growth from seedlings to postharvest. Although chemical fungicides can effectively control the disease in the short term, their prolonged use leads to issues such as chemical residues and the development of fungal resistance. This research aimed to evaluate the efficacy of *Streptomyces* spp. in inhibiting the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* under laboratory conditions. Seven isolates of *Streptomyces* spp. were tested for their antagonistic activity against the fungus on Potato Dextrose Agar (PDA) using the dual culture technique. The results showed that all seven *Streptomyces* spp. isolates inhibited the growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, with inhibition rates ranging from 49.10% to 59.63%. The isolate 2CRA05 and 2CRA04 exhibited the highest average inhibition rate at 59.63% and 59.19%, which was statistically significant. This was followed by isolates 2CRA02, 2CRA08, 2CRA01, 2CRF04, and SNP3-9C04, with average inhibition percentages of 55.02%, 54.24%, 53.72%, 52.41%, and 49.10%, respectively. Given the effectiveness of *Streptomyces* spp., these isolates present a promising alternative for biological control of plant diseases.

Keywords: *Streptomyces* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*

1. บทนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยมีพื้นที่เพาะปลูกทั่วประเทศและมีมูลค่าการส่งออกสูง โดยเฉพาะมะม่วงน้ำดอกไม้ ซึ่งเป็นที่นิยมในตลาดต่างประเทศ อย่างไรก็ตาม การผลิตมะม่วงมักประสบปัญหาสำคัญจากโรคแอนแทรกโนส (Anthracnose) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่สามารถเข้าทำลายได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ต้นกล้า ใบอ่อน ดอก ผลอ่อน ไปจนถึงผลสุกหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลให้ผลผลิตลดลงอย่างมากและเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญ [1] ปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีในการควบคุมโรคแอนแทรกโนส แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องส่งผลให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต การดื้อยาของเชื้อราสาเหตุโรครวมถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภค [2] ดังนั้น แนวทางการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น *Streptomyces* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก

ในกลุ่มแอคติโนมัยซีท ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราได้ดี [3] เชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) เช่น ampicillin, penicillin-N ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทม (β-lactamring) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย โอลิโดมัยซิน (oleandomycin) เป็นสารพวกแมโครไลด์ (macrolide) ผลิตโดย *S. antibioticus* [4] ซึ่งจะจับกับไรโบโซมและยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน สารต่อต้านเชื้อรา (anti-fungal agent) เช่น แคนดิดิน (candidin) เป็นสารพวกโพลีอีนแมโครไลด์ (polyene macrolide) ผลิตโดย *S. griseus* [5] มีฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ของเชื้อรา nystatin มีโครงสร้างเป็น polyene มีสมบัติฆ่าเชื้อราได้หลายชนิด polyoxin มีโครงสร้างเป็น nucleoside มีผลต่อการสร้างผนังเซลล์เชื้อรา anthracycline นอกจากเป็นสารต่อต้านเชื้อรายังเป็นสารต่อต้านมะเร็งด้วยโดยมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ในเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถเกิดการจำลองดีเอ็นเอได้

2. วิธีการศึกษา

2.1 ศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

นำใบมะม่วงน้ำดอกไม้ที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส มาทำการแยกเชื้อโดยใช้วิธี tissue transplant technique โดยตัดชิ้นส่วนใบมะม่วงบริเวณที่เป็นโรคให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย clorox 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3-5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำมาวางบนอาหาร Water Agar (WA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน เก็บเส้นใยที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อไว้ทดสอบต่อไป

2.2 ทดสอบความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

ทดสอบความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ 2CRA01, 2CRA02, 2CRA04, 2CRA05, 2CRA08, 2CRF04 และ SNP3-9C04 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคข้าว ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5-7 วัน เลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. บนอาหาร Oatmeal Agar (OA) เป็นเวลา 10-14 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคย้ายชิ้นรุ่น 2 ขึ้นของเชื้อราสาเหตุโรคลงบนอาหาร PDA แล้วปลูกเชื้อ *Streptomyces* spp. ในด้านตรงข้ามเว้นระยะห่างเท่ากัน โดยทำแยกกันแต่ละไอโซเลต ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ย้ายชิ้นรุ่นของเชื้อราสาเหตุโรคลงบนอาหาร PDA โดยปล่อยให้เจริญเป็นอิสระเพื่อใช้เปรียบเทียบ (control) บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม และชุดควบคุม

ประเมินศักยภาพเชื้อ *Streptomyces* spp. แต่ละไอโซเลต โดยคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต โดยคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent Inhibition of Diameter Growth = PIDG) ตามวิธีการของ [6] ดังนี้

$$\text{PIDG} = (D1 - D2) / D1 \times 100 \text{ โดย}$$

D1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อใน control

D2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

ทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน โดยให้เป็นระดับคะแนนดังนี้

4	=	>75 PIDG (very high antagonistic activity)
3	=	>61-75 PIDG (high antagonistic activity)
2	=	>51-60 PIDG (moderate antagonistic activity)
1	=	<50 PIDG (low antagonistic activity)

3. ผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. ทั้ง 7 ไอโซเลต ได้แก่ 2CRA01, 2CRA02, 2CRA04, 2CRA05, 2CRA08, 2CRF04 และ SNP3-9C04 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ในระหว่าง 49.10%-59.63% โดยทุกไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าไอโซเลต 2CRA05 และ 2CRA04 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 59.63 และ 59.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาคือไอโซเลต 2CRA02, 2CRA08, 2CRA01, 2CRF04 และ SNP3-9C04 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 55.02, 54.24, 53.72, และ 52.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลต SNP3-9C04 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อน้อยที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ ระดับ 2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อระหว่าง 51-60 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลต 2CRA01, 2CRA02, 2CRA04, 2CRA05, 2CRA08, 2CRF04 และระดับ 1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลต SNP3-9C04 (ตารางที่ 1) ความสามารถของไอโซเลตต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าแม้ความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะไม่สูงมาก แต่สามารถสะท้อนถึงศักยภาพที่แตกต่างกันของแต่ละไอโซเลตในการสร้างสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อราหรือกลไกทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น การผลิตสารแอนติไบโอติก เช่น streptomycin, actinomycin การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา เช่น chitinase, glucanase หรือการแข่งขันด้านการใช้พื้นที่และแหล่งอาหาร

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

Isolate	PIDG (%)	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน
2CRA01	53.72 b ^{1/}	2
2CRA02	55.02 b	2
2CRA04	59.19 a	2
2CRA05	59.63 a	2
2CRA08	54.24 b	2
2CRF04	52.41 b	2
SNP3-9C04	49.10 c	1
F-test	**	
C.V. (%)	3.58	

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสในมะม่วง

ก. ไอโซเลต 2CRA01	ข. ไอโซเลต 2CRA02	ค. ไอโซเลต 2CRA04	ง. ไอโซเลต 2CRA05
จ. ไอโซเลต 2CRA08	ฉ. ไอโซเลต 2CRF04	ช. ไอโซเลต SNP3-9C04	ซ. ชุดควบคุม

4. สรุปและวิจารณ์ผลทดลอง

จากการทดสอบพบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. ทั้ง 7 ไอโซเลต มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ในช่วง 49.10–59.63% แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ในการควบคุมโรคพืชแบบชีวภาพ ซึ่งเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยแทนการใช้สารเคมี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pratana Attanee (2017) [1] ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง โดยเฉพาะในการทดลองแบบ dual culture พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. บางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase และ glucanase ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Panthong, Boonyuen, & Thamchaipenet (2021) [7] ที่ศึกษาการใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. จากดินในสวนผลไม้เพื่อควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* และพบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. หลายสายพันธุ์สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น streptomycin และ actinomycin ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยของเชื้อราได้อย่างชัดเจน ความแตกต่างของประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในแต่ละไอโซเลตอาจขึ้นอยู่กับศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงถึงความจำเป็นในการศึกษาการออกฤทธิ์เพิ่มเติมเพื่อการคัดเลือกไอโซเลตที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในอนาคต

5. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Santiti Binkader, Rattiya Phongpisutha, & Chainarong Rattanaagreeethakul. (2018). Response of *Colletotrichum gloeosporioides* to chemical substances. *Journal of Agricultural Science*, 49(4), 167–170.
- [2] Office of Trade Policy and Strategy. (2025). Export value of Thai fresh fruits. Retrieved from <https://www.tpsa.go.th/>
- [3] Pratana Attanee. (2017). Study on the potential of *Streptomyces* spp. Incontrolling mango anthracnose (Master's thesis). Chiang Mai University.



- [4] Swan, D.G., Rodriguez, A.M., Vilches, C., Mendez, C., and Salas, J.A. (1994). Characterisation of a *Streptomyces antibioticus* gene encoding a type I polyketide synthase which has an unusual coding sequence. *Mol. Gen. Genet.* 242: 358-362.
- [5] Lechevalier, R., Acker, F., Corke, C.T., Haenseler, C.M., and Waksman, S.A. (1953). Candicidin, a new antifungal antibiotic. *Mycologia.* 45: 155-171.
- [6] Kasem Soythong. (1989). *Plant Diseases*. Bangkok: Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University.
- [7] Panthong, K., Boonyuen, N., & Thamchaipenet, A. (2021). In vitro antagonistic activity of *Streptomyces* spp. against *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose in tropical fruit. *Thai Journal of Agricultural Science*, 54(1), 23–31.