ตำราวิชาการเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAMBHAI BARNI RAJABHAT UNIVERSITY | ACADEMIC TEXTBOOK SERIES

จุลชีววิทยาการเกษตร

AGRICULTURAL MICROBIOLOGY

นิเวศวิทยา ของ ดิน การ ตรึง ไนโตรเจน การ ควบคุม โดย ชีว วิธี และ นวัตกรรม จุลินทรีย์การเกษตรแม่นยำ

บูรณาการเศรษฐกิจชีวภาพ BCG
Bio-Circular-Green
Agriculture & AI

ผู้เขียน
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี
วท.บ. (จุลชีววิทยา เกียรตินิยม), วท.ม. (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม), Ph.D. (Microbiology) จุฬาฯ
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

พุทธศักราช 2569 (ค.ศ. 2026)

จุลชีววิทยาการเกษตร

(Agricultural Microbiology)

ตำราประกอบการเรียนการสอนและการวิจัย

ตามกรอบมาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษาแห่งชาติ (TQF)

ผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี

วท.บ. (จุลชีววิทยา เกียรตินิยมอันดับ 2), วท.ม. (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม), Ph.D. (Microbiology) จุฬาฯ

อาจารย์ประจำสาขาวิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

พุทธศักราช 2569

คำนำ

จุลชีววิทยาการเกษตร (Agricultural Microbiology) เป็นศาสตร์ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งยวดต่อความมั่นคงทางอาหาร สิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศเกษตรที่ยั่งยืน ในยุคปัจจุบันที่ภาคการเกษตรทั่วโลกกำลังเผชิญหน้ากับความท้าทายหลายประการ ทั้งภาวะการเสื่อมโทรมของดิน การแพร่ระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) และความต้องการลดละเลิกการใช้สารเคมีสังเคราะห์ทางการเกษตร เพื่อก้าวเข้าสู่โมเดลเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียน และเศรษฐกิจสีเขียว (Bio-Circular-Green Economy: BCG Model) จุลินทรีย์จึงเป็นคำตอบทางธรรมชาติและกุญแจดอกสำคัญในการฟื้นฟูความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพิ่มผลผลิตพืช และสร้างสมดุลเชิงนิเวศ

ตำราเล่มนี้เรียบเรียงขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นเอกสารหลักในการจัดการเรียนการสอนรายวิชาจุลชีววิทยาการเกษตร สำหรับนักศึกษาระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ จุลชีววิทยา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ และเทคโนโลยีการเกษตร ตลอดจนเป็นแหล่งอ้างอิงทางวิชาการสำหรับคณาจารย์ นักวิจัย นักวิชาการเกษตร และเกษตรกรก้าวหน้าที่มุ่งเน้นการทำเกษตรแม่นยำและเกษตรยั่งยืน

โครงสร้างเนื้อหาของตำราเล่มนี้ได้รับการออกแบบอย่างเป็นระบบ แบ่งออกเป็น 9 บทเรียนหลัก และ 1 บทนำ ครอบคลุมตั้งแต่หลักการพื้นฐานจนถึงเทคโนโลยีระดับแนวหน้า

- **บทนำ** ประวัติวิวัฒนาการ หมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ และกรอบแนวคิดการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจชีวภาพ
- **บทที่ 1** ความหลากหลาย โครงสร้างประชากร และแหล่งอาศัยระดับไมโครของจุลินทรีย์ในดิน
- **บทที่ 2** วัฏจักรชีวธรณีเคมีและการหมุนเวียนธาตุอาหารหลัก (ไนโตรเจน คาร์บอน ฟอสฟอรัส และกำมะถัน)
- **บทที่ 3** ปฏิสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างจุลินทรีย์กับรากพืช (Rhizosphere, PGPR และ Mycorrhiza)

- **บทที่ 4** การควบคุมศัตรูพืชและโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol Agents) ด้วยไตรโคเดอร์มา บาซิลลัส และเชื้อราก่อโรคแมลง
- **บทที่ 5** สาเหตุ พยาธิสภาพ และการวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากจุลินทรีย์พร้อมแนวทางการจัดการแบบบูรณาการ
- **บทที่ 6** จุลินทรีย์ในการจัดการของเสียทางการเกษตร การทำปุ๋ยหมักชีวภาพ และการผลิตพลังงานก๊าซชีวภาพ
- **บทที่ 7** เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมเกษตรแปรรูป โพรไบโอติกสำหรับสัตว์และผลิตภัณฑ์ชีวภาพมูลค่าสูง
- **บทที่ 8** บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการกักเก็บคาร์บอน การบรรเทาผลกระทบจากภาวะโลกร้อน และการพัฒนาปุ๋ยชีวภาพ
- **บทที่ 9** การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอรหัสแท่ง (Metagenomics) ชีวสารสนเทศศาสตร์ และปัญญาประดิษฐ์ (AI) ในการประเมินดัชนีสุขภาพดิน

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ตำราเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ในการเสริมสร้างองค์ความรู้ ปูพื้นฐานการวิจัย และจุดประกายความคิดสร้างสรรค์ทางวิชาการ เพื่อนำเทคโนโลยีจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ยกระดับภาคการเกษตรของประเทศให้เจริญก้าวหน้า มั่นคง และยั่งยืนสืบไป

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
กันยายน 2569

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำตำราวิชาการเรื่อง **"จุลชีววิทยาการเกษตร (Agricultural Microbiology)"** เล่มนี้ สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยความกรุณา การสนับสนุน และความร่วมมือจากหลายฝ่ายที่เกี่ยวข้องเป็นอย่างดียิ่ง

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ตลอดจนผู้บริหาร คณาจารย์ และบุคลากรคณะเทคโนโลยีการเกษตรทุกท่าน ที่ได้ให้การส่งเสริม สนับสนุน บรรยากาศทางวิชาการ และจัดสรรทรัพยากรที่เอื้ออำนวยต่อการสร้างสรรค์ผลงานตำราเล่มนี้อย่างดียิ่งเสมอมา

ขอ ขอบพระคุณ ผู้ ช่วย ศาสตราจารย์ ดร.ชีวะ ทัศนา สาขา วิชา ฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัย ราชภัฏ รำไพ พรรณี ที่ ได้ ให้ คำ ปรึกษา ทางวิชาการ แนะนำ ระบบ การ จัดการ เรียน รู้ บูรณ า การ คณิตศาสตร์ และ เทคโนโลยี จำลองเสมือนจริง รวมถึงสนับสนุนการพัฒนาระบบสถาปัตยกรรมเอกสารและการเขียนโปรแกรมเชิงคำนวณที่ช่วยยกระดับตำราเล่มนี้ให้มีความทันสมัยและสมบูรณ์แบบ

ขอขอบคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ได้กรุณาสละเวลาตรวจอ่าน ให้ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะเชิงวิชาการ และคำวิจารณ์อันทรงคุณค่า ซึ่งทำให้เนื้อหาของตำรามีความถูกต้องตามหลักวิชาการและมีความครอบคลุมรอบด้าน

ขอ ขอบใจ นักศึกษา คณะ เทคโนโลยี การเกษตร และ คณะ วิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีทุกรุ่น ที่เป็นแรงบันดาลใจสำคัญในการเรียบเรียงตำราเล่มนี้ขึ้น เพื่อให้นักศึกษาได้มีตำราภาษาไทยที่มีมาตรฐานทางวิชาการระดับสากล มีเนื้อหาทันสมัย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานจริงในแปลงเกษตรกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจอันยิ่งใหญ่ ให้ความรัก ความเข้าใจ และสนับสนุนผู้เขียนในทุกย่างก้าวของการทำงานวิชาการเสมอมา คุณความดีและประโยชน์ใดๆ ที่พึงบังเกิดจากตำราเล่มนี้ ผู้เขียนขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของบูรพาจารย์และบุพการีทุกท่าน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี
มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ประมวลรายวิชา (Course Syllabus)

ข้อมูลทั่วไปของรายวิชา

รหัสและชื่อรายวิชา	AGR2105 จุลชีววิทยาการเกษตร (Agricultural Microbiology)
จำนวนหน่วยกิต	3(2-2-5) (บรรยาย 2 คาบ ปฏิบัติการ 2 คาบ ศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง 5 ชั่วโมง)
หลักสูตรและประเภท	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ (หมวดวิชาเฉพาะด้าน)
อาจารย์ผู้รับผิดชอบ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี
สถาบันการศึกษา	คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

คำอธิบายรายวิชา (Course Description)

บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศการเกษตร อนุกรมวิธานและความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน วัฏจักรชีวธรณีเคมีของธาตุอาหารพืช ปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับพืชบริเวณไรโซสเฟียร์ แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) เชื้อราไมคอร์ไรซา การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี จุลินทรีย์ก่อโรคพืชและการจัดการ การหมักของเสียทางการเกษตร การผลิตปุ๋ยชีวภาพและก๊าซชีวภาพ เทคโนโลยีชีวภาพทางจุลชีววิทยาการเกษตร บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีโอมิกส์สมัยใหม่ร่วมกับปัญญาประดิษฐ์ในการเกษตรแม่นยำ

ผลลัพธ์การเรียนรู้ระดับรายวิชา (Course Learning Outcomes: CLOs)

เมื่อสิ้นสุดการเรียนการสอนรายวิชานี้ นักศึกษาสามารถ:

CLO1: **อธิบายและจำแนก** ชนิด โครงสร้าง หน้าที่ และความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินและระบบนิเวศการเกษตรได้อย่างถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน (*Cognitive Level: Remember & Understand*)

CLO2: **วิเคราะห์** กลไกทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ในวัฏจักรการหมุนเวียนธาตุอาหาร และปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับรากพืชได้อย่างเป็นระบบ (*Cognitive Level: Analyze*)

CLO3: **ประยุกต์ใช้** จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี และออกแบบแผนการจัดการโรคพืชอย่างบูรณาการเพื่อลดการใช้สารเคมี (*Cognitive Level: Apply*)

CLO4: **ปฏิบัติการทดลอง** การเพาะเลี้ยง การคัดแยก การตรวจสอบคุณสมบัติ และการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ทางการเกษตรได้อย่างถูกต้องและปลอดภัยตามมาตรฐานสากล (*Psychomotor Domain*)

CLO5: **บูรณาการองค์ความรู้** เทคโนโลยีดีเอ็นเอรหัสแท่ง เมตาเจโนมิกส์ และการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยระบบอัจฉริยะ เพื่อแก้ปัญหาการจัดการดินและยกระดับผลผลิตพืชอย่างยั่งยืน (*Cognitive Level: Create*)

แผนที่แสดงการกระจายความรับผิดชอบมาตรฐานผลการเรียนรู้ (Curriculum Mapping)

หัวข้อเนื้อหาประจำสัปดาห์	CLO1	CLO2	CLO3	CLO4	CLO5
1. บทนำและประวัติศาสตร์จุลชีววิทยาการเกษตร	●	○			
2. ความหลากหลายและโครงสร้างของจุลินทรีย์ในดิน	●	●		●	
3. วัฏจักร ชีว ธรณี เคมี และ การ หมุนเวียน ธาตุอาหาร		●		●	
4. จุลินทรีย์บริเวณรากพืชและการส่งเสริมการเจริญเติบโต	●	●		●	○
5. การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพและปุ๋ยชีวภาพ		●		●	●
6. จุลินทรีย์กับการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี			●	●	●
7. โรคพืชที่เกิดจากจุลินทรีย์และการจัดการแบบบูรณาการ	●		●	●	
8. จุลินทรีย์ในการหมักและการจัดการของเสียเกษตร		●	●	●	
9. อุตสาหกรรม เกษตร แปรรูป และ เทคโนโลยีชีวภาพ	●	●		●	○
10. จุลินทรีย์กับสภาพภูมิอากาศและการกักเก็บคาร์บอน		●			●
11. การประยุกต์ใช้ AI และเมตาเจโนมิกส์ในดินเกษตร		○		●	●

สัญลักษณ์: ● ความรับผิดชอบหลัก ○ ความรับผิดชอบรอง

สารบัญ

คำนำ ii

กิตติกรรมประกาศ iv

ประมวลรายวิชา (Course Syllabus) vi

สารบัญภาพ xv

สารบัญตาราง xvii

1 วิวัฒนาการและความสำคัญของจุลชีววิทยาทางการเกษตร 1

แผนบริหารการสอนประจำบทนำ 1

1.1 ความหมายและขอบข่ายของจุลชีววิทยาการเกษตร 3

1.2 หมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ของจุลชีววิทยาการเกษตร 3

1.3 จุลินทรีย์กับการขับเคลื่อนโมเดลเศรษฐกิจชีวภาพ 4

คำถามทบทวนท้ายบทนำ 5

2 ความหลากหลายและโครงสร้างของจุลินทรีย์ในดิน 6

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 1 6

2.1 ดินในฐานะระบบนิเวศที่มีชีวิต 8

2.2 กลุ่มจุลินทรีย์หลักในดินและบทบาทเชิงนิเวศ 8

2.2.1 แบคทีเรียในดิน (Soil Bacteria) 8

2.2.2 แอกทิโนมัยซีท (Actinomycetes) 9

2.2.3 ฟังไจหรือเชื้อราในดิน (Soil Fungi) 9

2.2.4 อาร์เคียและโพรโทซัว (Archaea and Protozoa) 9
2.3 สถาปัตยกรรมเม็ดดินและแหล่งอาศัยระดับไมโคร 10
2.4 ปัจจัยที่ควบคุมความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน 10
2.5 กรณีศึกษาวิจัย ความหลากหลายและคุณสมบัติทางชีวภาพของดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี 11
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 1 12

3 วัฏจักรชีวธรณีเคมีและบทบาทของจุลินทรีย์ 14

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 2 14
3.1 ภาพรวมของวัฏจักรชีวธรณีเคมีในดิน 16
3.2 วัฏจักรไนโตรเจนในระบบเกษตรกรรม 16
3.2.1 การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation: BNF) 16
3.2.2 กระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) 17
3.2.3 กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) 17
3.3 วัฏจักรฟอสฟอรัสและจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต 18
3.3.1 กรณีศึกษาวิจัย แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อนในพื้นที่ปกปักทรัพยากรและดินสวนผลไม้ 19
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 2 19

4 จุลินทรีย์บริเวณรากพืชและการส่งเสริมการเจริญเติบโต 21

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 3 21
4.1 นิเวศวิทยาบริเวณไรโซสเฟียร์ 23
4.2 แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) 23
4.3 กลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 24
4.4 แบคทีเรียทนทานสภาวะเครียดและจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ในไม้ผล 25
4.4.1 แบคทีเรีย สร้าง พอ ลิ แซ็ก คา ไรด์ นอก เซลล์ ทน แล้ง (EPS-Producing Drought Tolerant Rhizobacteria) 25
4.4.2 พี จี พี อาร์ ทนทาน หลาย สภาวะ เครียด (Multi-Stress Tolerant PGPR) 26

4.4.3 จุลินทรีย์เอนโดไฟต์ในทุเรียนพันธุ์เศรษฐกิจและพันธุ์พื้นเมือง . . 26
4.5 ชีววิทยาของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 27
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 3 27

5 จุลินทรีย์กับการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี 29

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 4 29
5.1 หลักการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี 31
5.2 กลไกของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช 31
5.2.1 1. การเป็นปรสิตบนเส้นใยรา (Mycoparasitism) 31
5.2.2 2. การสร้างสารปฏิชีวนะและการแก่งแย่ง (Antibiosis and Competition) 31
5.2.3 3. การชักนำให้พืชสร้างความต้านทานโรค (Induced Systemic Resistance หรือ ISR) 32
5.3 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์พื้นถิ่นเพื่อการควบคุมโรคไม้ผลในภาคตะวันออก 32
5.3.1 การคัดกรองแบคทีเรียปฏิปักษ์ต้านเชื้อราจากดินสวนผลไม้จันทบุรี 33
5.3.2 แอกติโนมัยซีทปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. SR1301 จากพื้นที่ปกปักทรัพยากร อพ.สธ. 33
5.4 จุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืช 33
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 4 34

6 โรคพืชที่เกิดจากจุลินทรีย์และการจัดการ 36

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 5 36
6.1 สามเหลี่ยมการเกิดโรคพืชและวงจรการระบาด 38
6.2 โรคพืชสำคัญที่เกิดจากเชื้อราและโอโอไมซีท 39
6.2.1 1. โรค ราก เน่า โคน เน่า และ ผล เน่า ทุเรียน (*Phytophthora palmivora*) 39
6.2.2 2. โรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* spp.) 39
6.3 โรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย 39
6.4 เทคนิคการวินิจฉัยโรคพืชระดับโมเลกุลในแปลงปลูก (LAMP Technique) . 40

6.4.1 การตรวจหาเชื้อราไฟทอปธอราในทุเรียนด้วยเทคนิค LAMP . . . 40
6.4.2 การตรวจหาเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ในมะม่วงน้ำดอกไม้ 40
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 5 41

7 จุลินทรีย์ในการหมักและการจัดการของเสียทางการเกษตร 43
แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 6 43
7.1 ชีววิทยาของการทำปุ๋ยหมักแบบใช้ออกซิเจน 45
7.2 การหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและการผลิตก๊าซชีวภาพ 46
7.3 การบำบัดทางชีวภาพและการย่อยสลายสารเคมีเกษตรตกค้าง 47
7.3.1 การย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทด้วยแบคทีเรีย PGPR . . 47
7.3.2 การตรึงเซลล์จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษน้ำเสียและสารตกค้าง 48
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 6 49

8 จุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมเกษตรแปรรูปและเทคโนโลยีชีวภาพ 50
แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 7 50
8.1 จุลชีววิทยาของการหมักพืชอาหารสัตว์ 52
8.2 โพรไบโอติกในอาหารสัตว์ 52
8.3 การเพาะเห็ดเศรษฐกิจกับการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส 53
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 7 53

9 จุลินทรีย์กับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการเกษตรยั่งยืน 55
แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 8 55
9.1 ภาคการเกษตรกับวิกฤตสภาพภูมิอากาศ 57
9.2 การกักเก็บคาร์บอนในดินและชีวมวลซากจุลินทรีย์ 57
9.3 การเสริมฤทธิ์ระหว่างถ่านชีวภาพกับจุลินทรีย์ 58
คำถามทบทวนท้ายบทที่ 8 59

10 การประยุกต์ใช้ AI และโอมิกส์สมัยใหม่ในจุลชีววิทยาการเกษตร 60

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 9 60

10.1 จากจุลชีววิทยาดั้งเดิมสู่ยุคโอมิกส์ 62

10.2 เทคนิคดีเอ็นเอรหัสแท่งและเมตาเจโนมิกส์ 62

10.3 ปัญญาประดิษฐ์กับจุลชีววิทยาการเกษตรแม่นยำ 63

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 9 64

11 ปัญญาประดิษฐ์และการเรียนรู้เชิงลึกในจุลชีววิทยาการเกษตร 65

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 10 65

11.1 ภาพรวมของปัญญาประดิษฐ์ในจุลชีววิทยาเกษตร 67

11.2 Convolutional Neural Network กับการวินิจฉัยโรคพืช 68

11.2.1 การวินิจฉัยโรคพืชจากภาพถ่ายด้วย CNN 68

11.2.2 การวิเคราะห์ภาพจุลทรรศน์และโคโลนีจุลินทรีย์ด้วย AI 68

11.3 Transformer และ Protein Language Models กับจีโนมิกส์จุลินทรีย์ . . . 69

11.3.1 DNA Language Models และการวิเคราะห์จีโนมจุลินทรีย์ 69

11.3.2 Protein Language Models และการออกแบบเอนไซม์ทางการเกษตร 69

11.4 Reinforcement Learning กับการเพิ่มประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ . . . 70

11.5 Explainable AI กับการตัดสินใจเชิงเกษตรที่โปร่งใส 70

11.6 Federated Learning กับเครือข่ายเกษตรอัจฉริยะ 71

11.7 Large Language Models กับการเข้าถึงความรู้จุลชีววิทยาเกษตร 72

11.8 แนวโน้มอนาคตของ AI ในจุลชีววิทยาเกษตรไทย 72

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 10 73

A สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐานสำหรับจุลินทรีย์การเกษตร 74

A.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป (Nutrient Agar: NA) 74

A.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา (Potato Dextrose Agar: PDA) 74

A.3 อาหารทดสอบการละลายฟอสเฟต (Pikovskaya's Agar) 75

A.4 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนพืชตระกูลถั่ว (YEMA) 75

B ตารางจำแนกจุลินทรีย์ในพืชเศรษฐกิจไทย **77**

C โปรโตคอลการตรวจวิเคราะห์และสกัดดีเอ็นเอจากดิน **78**

C.1 โปรโตคอลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอรวมจากดิน (Soil DNA Extraction) . . 78

C.2 โปรโตคอลการตรวจนับจุลินทรีย์ดิน (Serial Dilution & Plate Count) . . 79

D ดัชนีคำศัพท์จุลชีววิทยาการเกษตร **80**

บรรณานุกรม **82**

ดัชนีสืบค้นคำสำคัญ **86**

ประวัติผู้เขียน **88**

สารบัญภาพ

1.1 เส้นเวลาหมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ของจุลชีววิทยาการเกษตร . . 4

2.1 ภาคตัดขวางจำลองโครงสร้างเม็ดดิน (Soil Aggregate Architecture) แสดงแหล่งอาศัยระดับไมโครของจุลินทรีย์ดิน 10

3.1 แผนผังวัฏจักรไนโตรเจนสมบูรณ์ในดินเกษตรกรรม (Complete Soil Nitrogen Cycle) 18

4.1 ภาคตัดขวางรากพืชและปฏิสัมพันธ์เชิงบวกของจุลินทรีย์บริเวณไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere Interactions) 24

4.2 กลไกของแบคทีเรียบริเวณรากพืชที่สร้างพอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (EPS) ในการปกป้องขนรากพืชภายใต้สภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (ดัดแปลงจาก Chanthamalee & Puckdee, 2024) 26

5.1 แผนผังกลไก 3 ทิศทางของการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (Tripartite Biocontrol Mechanisms) 32

6.1 สามเหลี่ยมการเกิดโรคพืช (The Plant Disease Triangle) แสดงปฏิสัมพันธ์ขององค์ประกอบสำคัญ 38

6.2 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อก่อโรคพืชด้วยเทคนิค LAMP ภาคสนามแบบรวดเร็วและอ่านผลด้วยตาเปล่า (ดัดแปลงจาก Thongphueak, Chanthamalee et al., 2021, 2022) 41

7.1 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและระยะการย่อยสลายในกระบวนการทำปุ๋ยหมักแบบใช้ออกซิเจน 46

7.2 วิถีทางชีวเคมีในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทโดยแบคทีเรีย PGPR ผ่านวิถี C-P Lyase และ AMPA (ดัดแปลงจาก Saithong & Chanthamalee, 2017; Chanthamalee & Waratchareeyakul, 2020) 48

8.1 กระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์ (Silage Fermentation) และพลวัตการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง 52

9.1 วิถีการกักเก็บคาร์บอนในดินผ่านชีวมวลซากจุลินทรีย์ (Microbial Carbon Pump and Necromass) 58

10.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ชุมชนจุลินทรีย์ในดินด้วยเมตาเจโนมิกส์และปัญญาประดิษฐ์เพื่อเกษตรแม่นยำ 63

11.1 ระดับชั้นของเทคโนโลยีปัญญาประดิษฐ์และการประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาการเกษตร 67

11.2 เทคนิค Explainable AI (XAI) ที่ประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาการเกษตรเพื่อความโปร่งใสในการตัดสินใจ 71

สารบัญตาราง

B.1 การกระจายตัวของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชเศรษฐกิจหลักของไทย 77

บทที่ 1

วิวัฒนาการและความสำคัญของจุลชีววิทยาทางการเกษตร

แผนบริหารการสอนประจำบทนำ

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ความหมายและขอบข่ายของจุลชีววิทยาการเกษตร
2. ลำดับเวลาและหมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ของจุลชีววิทยาการเกษตร
3. ความเชื่อมโยงระหว่างจุลินทรีย์กับความมั่นคงทางอาหารและสิ่งแวดล้อม
4. บทบาทของจุลินทรีย์ในการขับเคลื่อนโมเดลเศรษฐกิจชีวภาพ (BCG Model)

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายขอบข่ายและความสำคัญของจุลชีววิทยาในระบบนิเวศการเกษตรได้
2. ระบุและวิเคราะห์ผลงานของนักวิทยาศาสตร์ผู้บุกเบิกในอดีตที่ส่งผลต่อการเกษตรสมัยใหม่ได้
3. อธิบาย บทบาท ของ จุลินทรีย์ ใน การ สนับสนุน เป้า หมาย การ พัฒนา ที่ ยั่งยืน และเศรษฐกิจชีวภาพได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายเชิงวิชาการร่วมกับการอภิปรายกรณีศึกษาพัฒนาการทางประวัติศาสตร์
2. การศึกษาและสรุปแผนผังเส้นเวลาของนวัตกรรมชีวภาพทางการเกษตร
3. การระดมความคิดเห็นเกี่ยวกับแนวทางการนำจุลินทรีย์มาทดแทนสารเคมีในท้องถิ่นภาคตะวันออก

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนและภาพประกอบจำลองเส้นเวลาประวัติศาสตร์
2. สไลด์การสอนดิจิทัลและวิดีทัศน์สารคดีเกี่ยวกับนักวิทยาศาสตร์ผู้ค้นพบจุลินทรีย์ดิน

การประเมินผล

1. การประเมินจากการตอบคำถามและการมีส่วนร่วมในการอภิปรายในชั้นเรียน
2. การตรวจแบบฝึกหัดท้ายบทและรายงานการวิเคราะห์โมเดลเศรษฐกิจชีวภาพ

1.1 ความหมายและขอบข่ายของจุลชีววิทยาการเกษตร

จุล ชีววิทยา การเกษตร (Agricultural Microbiology) เป็น สาขา วิชา ประยุกต์ ของวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ที่ มุ่ง เน้น ศึกษา โครงสร้าง สรีรวิทยา พันธุ ศาสตร์ นิเวศวิทยา และปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ แบคทีเรีย (Bacteria) ฟังไจ (Fungi) แอกทิโนมัยซีท (Actinomycetes) อาร์เคีย (Archaea) สาหร่าย (Algae) และไวรัส (Viruses) ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบการผลิตทางการเกษตร ทั้งในมิติการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การฟื้นฟูดิน และการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

นิยามสำคัญ จุลชีววิทยาการเกษตร

จุล ชีววิทยา การเกษตร หมาย ถึง ศาสตร์ ที่ บูรณ า การ ความ รู้ ด้าน จุล ชีววิทยา กับ เทคโนโลยีการ ผลิต พืชและ สัตว์ เพื่อ ทำความ เข้าใจ ปฏิสัมพันธ์ในระบบ นิเวศ ดิน-พืช-จุลินทรีย์ และ พัฒนา ต่อย อด เป็น เทคโนโลยี ชีวภาพ ที่ สร้าง ผลผลิต ทางการเกษตรอย่างยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

1.2 หมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ของจุลชีววิทยาการเกษตร

พัฒนาการ ของ จุล ชีววิทยา การเกษตรไม่ได้ เกิด ขึ้น อย่าง โดด เดี่ยว หาก แต่ เชื่อม โยง กับ วิวัฒนาการของกล้องจุลทรรศน์ เคมีเกษตร และนิเวศวิทยา โดยมีนักวิทยาศาสตร์ผู้บุกเบิกที่สำคัญดังนี้

ในคริสต์ศักราช 1676 **อันโทนี ฟาน เลเวนฮุก (Antonie van Leeuwenhoek, 1632–1723)** นักประดิษฐ์ชาวดัตช์ ได้ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์เลนส์เดียวกำลังขยายสูง และเป็นมนุษย์คนแรกที่สังเกตพบจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำและดิน ซึ่งเขาบันทึกเรียกว่า ”สัตว์เซลล์เดียวขนาดเล็ก (Animalcules)”

ต่อมาในช่วงกลางคริสต์ศตวรรษที่ 19 **หลุยส์ ปาสเตอร์ (Louis Pasteur, 1822–1895)** นักเคมีและนักจุลชีววิทยาชาวฝรั่งเศส ได้พิสูจน์ให้เห็นว่า กระบวนการหมักไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ แต่เกิดจากกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และปฏิเสธทฤษฎีการเกิดสิ่งมีชีวิตขึ้นมาเอง (Spontaneous Generation) อย่างสิ้นเชิง ซึ่งปูทางไปสู่วิธีการควบคุมจุลินทรีย์และการพาสเจอร์ไรซ์

ในด้านจุลชีววิทยาของดินโดยเฉพาะ นักวิทยาศาสตร์ผู้ได้รับการยกย่องให้เป็นบิดาแห่งจุลชีววิทยาดินคือ **เซอร์เกย์ วินโนกราดสกี (Sergei Winogradsky, 1856–1953)** นัก

จุลชีววิทยาชาวรัสเซีย ในปี ค.ศ. 1887 วินโนกราดสกีได้ค้นพบกระบวนการใช้พลังงานเคมีจากสารอนินทรีย์ (Chemoautotrophy) และค้นพบแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) ได้แก่ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ตลอดจนแยกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระไม่ใช้ออกซิเจน *Clostridium pasteurianum*

ในเวลาใกล้เคียงกัน ในปี ค.ศ. 1888 **มาร์ตินัส เบเจอรินค์ (Martinus Beijerinck, 1851–1931)** นักพฤกษศาสตร์และนักจุลชีววิทยาชาวดัตช์ ได้ประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่ร่วมกับพืชตระกูลถั่วในปมราก คือ *Rhizobium leguminosarum* และพัฒนาเทคนิคอาหารเลี้ยงเชื้อแบบคัดเลือก (Enrichment Culture Technique) ซึ่งเป็นรากฐานสำคัญในการแยกจุลินทรีย์จากธรรมชาติมาจนถึงปัจจุบัน

ในช่วงคริสต์ทศวรรษ 1940 **เซลแมน วาคส์แมน (Selman Waksman, 1888–1973)** นักจุลชีววิทยาดินชาวอเมริกันเชื้อสายยูเครน ได้ศึกษาแอกทิโนมัยซีทในดิน และค้นพบสารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) ซึ่งสามารถรักษาวัณโรคและโรคติดเชื้อแบคทีเรียได้ ส่งผลให้เขาได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ในปี ค.ศ. 1952 และกระตุ้นให้เกิดการค้นคว้าจุลินทรีย์ในดินเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และการเกษตรอย่างกว้างขวาง

ภาพที่ 1.1 เส้นเวลาหมุดหมายสำคัญทางประวัติศาสตร์ของจุลชีววิทยาการเกษตร

1.3 จุลินทรีย์กับการขับเคลื่อนโมเดลเศรษฐกิจชีวภาพ

ในบริบทของการพัฒนาที่ยั่งยืนแห่งสหัสวรรษ รัฐบาลไทยและประชาคมโลกได้ผลักดันโมเดลเศรษฐกิจสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน (Bio-Circular-Green Economy: BCG Model) ซึ่งจุลินทรีย์การเกษตรมีบทบาทครอบคลุมทั้งสามเสาหลัก

1. **เศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy)** มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม เช่น การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) เพื่อผลิตปุ๋ยชีวภาพทดแทนปุ๋ยเคมีราคาแพง

2. **เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy)** คำนึงถึงการนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์ให้เกิดความคุ้มค่าสูงสุด ผ่านกระบวนการย่อยสลายทาง

ชีวภาพ (Biodegradation) ของเชื้อราและแบคทีเรีย เช่น การทำปุ๋ยหมักจากทะลายปาล์มเปล่าและกากอ้อย

3. **เศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy)** มุ่งเน้นการพัฒนาที่รักษาสมดุลสิ่งแวดล้อม ลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก และรักษาความหลากหลายทางชีวภาพของดิน

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร จุลินทรีย์กับการเกษตรภาคตะวันออก

จังหวัดจันทบุรีและกลุ่มจังหวัดภาคตะวันออกของประเทศไทย เป็นศูนย์กลางการผลิตผลไม้เมืองร้อนคุณภาพสูง เช่น ทุเรียน มังคุด และลำไย การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma harzianum*) ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* ถือเป็นตัวอย่างความสำเร็จของการเกษตรปลอดภัยที่ช่วยลดต้นทุนสารเคมีและเพิ่มความปลอดภัยแก่เกษตรกรและผู้บริโภค

คำถามทบทวนท้ายบทนำ

1. จงอธิบายความสำคัญของเทคนิค Enrichment Culture ของ Martinus Beijerinck ต่อการพัฒนาจุลชีววิทยาการเกษตร
2. เหตุใดการค้นพบกระบวนการ Chemoautotrophy ของ Sergei Winogradsky จึงเปลี่ยนมุมมองของนักวิทยาศาสตร์ต่อการหมุนเวียนธาตุในดิน
3. จงวิเคราะห์ว่าการใช้จุลินทรีย์การเกษตรสามารถตอบโจทย์โมเดลเศรษฐกิจ BCG ในมิติเศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) ได้อย่างไรบ้าง

บทที่ 2

ความหลากหลายและโครงสร้างของจุลินทรีย์ในดิน

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 1

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ดินในฐานะระบบนิเวศและแหล่งอาศัยของสิ่งมีชีวิต
2. การจำแนกและลักษณะของกลุ่มจุลินทรีย์หลักในดิน (แบคทีเรีย รา แอกทิโนมัยซีท อาร์เคีย และโปรโตซัว)
3. สถาปัตยกรรมเม็ดดิน (Soil Aggregates) และแหล่งอาศัยระดับไมโคร
4. ปัจจัยทางกายภาพ เคมี และชีวภาพที่ควบคุมความหลากหลายของจุลินทรีย์ดิน
5. การประเมินชีวมวลและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายลักษณะโครงสร้าง บทบาท และเกณฑ์การจำแนกกลุ่มจุลินทรีย์หลักในดินเกษตรได้อย่างถูกต้องและครบถ้วน
2. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างเม็ดดินกับแหล่งอาศัยระดับจุลภาคของประชากรจุลินทรีย์ดินได้อย่างมีเหตุผล

3. อธิบาย อิทธิพล ของ ค่า pH ความชื้น และ ปริมาณ อิน ทรีย วัตถุ ใน ดิน ต่อ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ได้อย่างครบถ้วน
4. คำนวณหาจำนวนโคโลนีและประเมินค่าชีวมวลของจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินเกษตรด้วยวิธีมาตรฐานได้อย่างถูกต้อง

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายประกอบสื่อภาพนิ่งและภาพเคลื่อนไหวโครงสร้างเม็ดดิน 3 มิติ
2. ปฏิบัติการเก็บตัวอย่างดินและตรวจนับจุลินทรีย์ด้วยวิธี Spread Plate บนอาหารจำเพาะ
3. การศึกษาและอภิปรายผลการตรวจวัดค่า pH ดินต่อปริมาณประชากรเชื้อราและแบคทีเรีย

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 1 และภาพประกอบเวกเตอร์โครงสร้างเม็ดดิน
2. ตัวอย่างดินจริงจากสวนไม้ผลและแปลงพืชไร่ในจังหวัดจันทบุรี
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และ Potato Dextrose Agar (PDA)

การประเมินผล

1. การประเมินผลการตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ในรายงานผลการทดลองปฏิบัติการ
2. การทดสอบย่อยประจำบทและการทำแบบฝึกหัดคำนวณชีวมวลท้ายบท

2.1 ดินในฐานะระบบนิเวศที่มีชีวิต

ดินมิได้เป็นเพียงเศษหิน แร่ธาตุ หรือสารอนินทรีย์ที่ปราศจากชีวิต หากแต่เป็นระบบนิเวศที่มีความซับซ้อนและมีชีวิตชีวามากที่สุดแห่งหนึ่งบนโลก ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์เพียง 1 ช้อนชา (ประมาณ 1 กรัม) สามารถพบประชากรจุลินทรีย์ได้มากกว่าหนึ่งพันล้านถึงหนึ่งหมื่นล้านเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียนับหมื่นสปีชีส์ สายใยรานับร้อยเมตร และโพรโทซัวอีกนับแสนตัว

สิ่ง มี ชีวิต ขนาด เล็ก เหล่า นี้ ทำ หน้าที่ เป็น ตัว ขับ เคลื่อน หลัก ใน กระบวนการเปลี่ยนแปลง รูป สาร (Biochemical Transformation) การ หมุนเวียน ธาตุ อาหาร และการสร้างความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดิน (Soil Microbial Biomass) คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 1–5% ของปริมาณอินทรียวัตถุทั้งหมดในดิน แต่กลับมีกิจกรรมทางชีวเคมีที่ส่งผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินและการเจริญเติบโตของพืชอย่างมหาศาล

2.2 กลุ่มจุลินทรีย์หลักในดินและบทบาทเชิงนิเวศ

ชุมชนจุลินทรีย์ในดินสามารถจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มทางชีววิทยาที่สำคัญได้ดังนี้

2.2.1 แบคทีเรียในดิน (Soil Bacteria)

แบคทีเรียเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีจำนวนประชากรมากที่สุดในดิน โดยทั่วไปพบได้ตั้งแต่ 10^7 ถึง 10^9 เซลล์ต่อกรัมดินแห้ง มีความหลากหลายทางเมแทบอลิซึมสูงมาก สามารถแบ่งตามโครงสร้างผนังเซลล์และการตอบสนองต่อสีย้อมแกรมได้แก่

- **แบคทีเรียแกรมบวก (Gram-Positive Bacteria)** มักมีผนังเซลล์เปปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ที่หนา มีความทนทานต่อสภาวะแห้งแล้งและอุณหภูมิสูงได้ดี กลุ่มที่สำคัญอย่างยิ่งในการเกษตรคือจีนัส *Bacillus* ซึ่งสามารถสร้างเอนโดสปอร์ (Endospore) พักตัวได้เป็นเวลานาน และผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารอินทรีย์หลายชนิด
- **แบคทีเรียแกรมลบ (Gram-Negative Bacteria)** มีเยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer Membrane) ห่อหุ้มผนังเซลล์บาง มีการตอบสนองต่อสารหลั่งจากรากพืชได้อย่างรวดเร็ว เช่น จีนัส *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, และ *Burkholderia* ซึ่งหลายชนิดจัดเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR)

2.2.2 แอกทิโนมัยซีท (Actinomycetes)

แอกทิโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์พิเศษที่เจริญเติบโตเป็นสายใยคล้ายเชื้อรา (Filamentous Bacteria) และสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างสารระเหยชื่อว่า **จีออสมิน (Geosmin)** ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นไอหอมของไอดินหลังฝนตก (Petrichor) แอกทิโนมัยซีทมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์โครงสร้างซับซ้อน เช่น ไคติน (Chitin) เซลลูโลส (Cellulose) และลิกนิน (Lignin) สกุลที่พบมากที่สุดคือ *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารทุติยภูมิและสารปฏิชีวนะมากกว่า 70% ของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในวงการแพทย์และการเกษตร

2.2.3 ฟังไจหรือเชื้อราในดิน (Soil Fungi)

เชื้อรามีชีวมวล (Biomass) คิดเป็นสัดส่วนที่ใหญ่ที่สุดในดิน เนื่องจากมีโครงสร้างเส้นใยรา (Hyphae) ที่ยาวและแผ่กระจายเชื่อมต่อกันเป็นโครงข่ายไมซีเลียม (Mycelium) เชื้อรามีความสามารถในการทนทานต่อสภาพดินกรด (Acidic Soils) ได้ดีกว่าแบคทีเรีย หน้าที่เด่นของเชื้อราคือการผลิตเอนไซม์ภายนอกเซลล์ (Extracellular Enzymes) เพื่อย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสในซากพืช และกลุ่มที่อยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยคือ เชื้อราไมคอร์ไรซา (Mycorrhizal Fungi) ซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซับน้ำและฟอสฟอรัสให้แก่พืช

นิยามสำคัญ กลูมาลิน (Glomalin)

กลูมาลิน เป็นไกลโคโปรตีนที่สร้างขึ้นจากผนังเซลล์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (AMF) มีคุณสมบัติเหนียวและไม่ละลายน้ำ ทำหน้าที่เสมือนกาวชีวภาพที่ยึดอนุภาคดินเหนียว ดินทราย และอินทรียวัตถุเข้าด้วยกันเป็นเม็ดดินที่มั่นคง ช่วยปกป้องคาร์บอนในดินไม่ให้ถูกย่อยสลายเร็วเกินไป

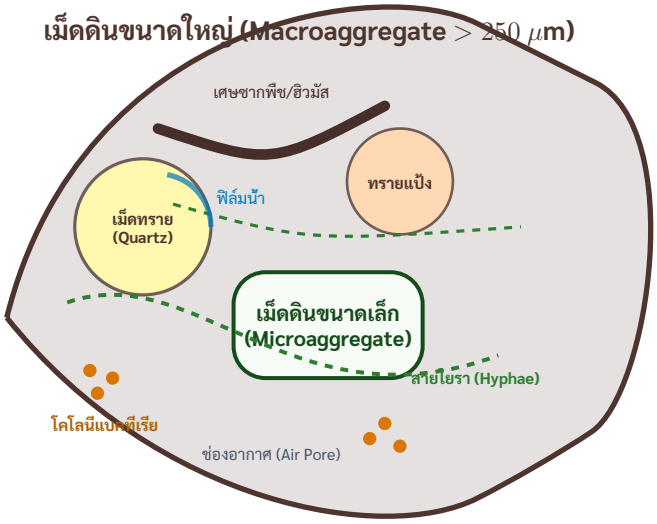
2.2.4 อาร์เคียและโพรโทซัว (Archaea and Protozoa)

ในอดีตเชื่อว่าอาร์เคียอาศัยอยู่เฉพาะในสภาวะแวดล้อมสุดขั้ว แต่การศึกษาทางชีววิทยาโมเลกุลในปัจจุบันพบว่า อาร์เคียในดินมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะกลุ่ม **Thaumarchaeota** ซึ่งทำหน้าที่ออกซิไดซ์แอมโมเนีย (Ammonia-Oxidizing Archaea: AOA) ในดินที่มีปริมาณสารอาหารต่ำและดินที่มีความเป็นกรดสูง ส่วนโพรโทซัว (Protozoa) ทำหน้าที่เป็นผู้บริโภคอันดับแรก (Bacterivores) ที่คอยล่ากินเซลล์แบคทีเรีย ช่วยปลดปล่อยธาตุไนโตรเจนที่ถูกกักเก็บในเซลล์แบคทีเรียให้ออกมาในรูปของไอออนแอมโมเนียม (NH_4^+) ที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันที

2.3 สถาปัตยกรรมเม็ดดินและแหล่งอาศัยระดับไมโคร

โครงสร้างของดินประกอบด้วยการรวมตัวกันของอนุภาคเดี่ยว (ทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว) กลายเป็น **เม็ดดิน (Soil Aggregates)** ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็น 2 ขนาดหลัก ดังนี้

1. **เม็ดดินขนาดใหญ่ (Macroaggregates)** มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 250 ไมโครเมตร ($> 250\ \mu$m) เชื่อมยึดกันด้วยสายใยรา รากพืช และเมือกพอลิแซ็กคาไรด์
2. **เม็ดดินขนาดเล็ก (Microaggregates)** มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร ($< 250\ \mu$m) ยึดเหนี่ยวกันอย่างแน่นหนาด้วยสารประกอบฮิวมัส สารกลูมาลิน และประจุไฟฟ้าของแร่ดินเหนียว



ภาพที่ 2.1 ภาคตัดขวางจำลองโครงสร้างเม็ดดิน (Soil Aggregate Architecture) แสดงแหล่งอาศัยระดับไมโครของจุลินทรีย์ดิน

2.4 ปัจจัยที่ควบคุมความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน

การกระจายตัว ปริมาณ และกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินถูกกำหนดโดยปัจจัยทางกายภาพและเคมีหลัก 4 ประการ

1. **ความเป็นกรด-ด่างของดิน (Soil pH)** มีอิทธิพลต่อโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์อย่างเด่นชัด โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่สุดในช่วง pH เป็นกลางถึงด่างอ่อน

(6.5–8.0) ในขณะที่เชื้อราสามารถทนทานต่อสภาพดินกรดได้ดี (pH 4.5–6.0) ในดินที่มีค่า pH ต่ำกว่า 5.0 กิจกรรมของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและแบคทีเรียไนตริฟิเคชันจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

2. **ความชื้นและการถ่ายเทอากาศ (Moisture and Aeration)** น้ำในดินทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการละลายและแพร่กระจายสารอาหาร เมื่อดินมีความชื้นที่ระดับความจุความชื้นสนาม (Field Capacity) จุลินทรีย์กลุ่มใช้ออกซิเจน (Aerobes) จะทำงานได้สูงสุด หากเกิดน้ำท่วมขัง ช่องอากาศจะถูกแทนที่ด้วยน้ำ ก่อให้เกิดสภาวะขาดออกซิเจน ซึ่งส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobes)

3. **อุณหภูมิ (Temperature)** จุลินทรีย์ ดิน ส่วน ใหญ่ จัด อยู่ ใน กลุ่ม เม โซ ไฟล์ (Mesophiles) ซึ่ง มี อุณหภูมิ ที่ เหมาะ สม ต่อ การ เจริญ เติบโต ระหว่าง 25–35 องศาเซลเซียส

4. **ปริมาณและอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N Ratio)** การใส่วัสดุอินทรีย์ที่มีค่า C:N สูง เช่น ฟางข้าว (C:N ประมาณ 80:1) จะทำให้เกิดภาวะจุลินทรีย์แย่งใช้ไนโตรเจนจากดิน (Nitrogen Immobilization) ส่งผลให้พืชแสดงอาการขาดไนโตรเจนชั่วคราว

2.5 กรณีศึกษาวิจัย ความหลากหลายและคุณสมบัติทางชีวภาพของดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี

ในพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดจันทบุรีซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ทุเรียน มังคุด และเงาะ สภาพแวดล้อมในดินมีความจำเพาะจากการจัดการสารเคมีและปุ๋ยเคมีต่อเนื่องยาวนาน การศึกษาของ **จิรภัทร จันทมาลี และคณะ (Chanthamalee et al., 2016, 2017)** เรื่องความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และคุณสมบัติทางชีวภาพของดินสวนผลไม้ในพื้นที่ตำบลพลับพลา อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ได้ทำการสำรวจประชากรแบคทีเรีย เชื้อรา และแอกทิโนมัยซีท ควบคู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างและอินทรียวัตถุในดิน

ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่า ดินสวนผลไม้ที่มีการจัดการแบบผสมผสานร่วมกับอินทรียวัตถุมีปริมาณประชากรแบคทีเรียและแอกทิโนมัยซีทสูงกว่าสวนที่ใช้สารเคมีเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์สกุล *Bacillus* และแอกทิโนมัยซีทสกุล *Streptomyces* เป็นกลุ่มเด่นที่มีบทบาทสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารอินทรีย์และผลิตสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในระบบนิเวศดินสวนผลไม้ ข้อมูลเชิงประจักษ์นี้ยืนยันว่าการรักษา

สมดุลทางชีวภาพของดินเป็นรากฐานสำคัญต่อเสถียรภาพผลผลิตของไม้ผลเมืองร้อนอย่างยั่งยืน

ตัวอย่างการคำนวณและวิเคราะห์ การคำนวณประชากรจุลินทรีย์ในดินด้วยวิธี Dilution Plating

โจทย์ ชั่งตัวอย่างดินเกษตรความชื้น 15% หนัก 10.0 กรัม นำไปเจือจางในน้ำเกลือปลอดเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร (ได้สารละลายเจือจางระดับ 10^{-1}) จากนั้นทำการเจือจางแบบต่อเนื่องจนถึงระดับ 10^{-6} แล้วดูดสารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยลงบนจานอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบโคโลนีแบคทีเรียเฉลี่ย 142 โคโลนี จงคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียต่อกรัมดินแห้ง (CFU/g dry soil)

วิธีทำ 1. คำนวณน้ำหนักแห้งของตัวอย่างดิน

$$\text{น้ำหนักดินแห้ง} = 10.0 \times \left(1 - \frac{15}{100}\right) = 8.5 \text{ กรัม} \tag{2.1}$$

2. คำนวณจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรในระดับความเจือจาง 10^{-6}

$$\text{CFU/mL} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี}}{\text{ปริมาตรที่เกลี่ย (mL)}} = \frac{142}{0.1} = 1.42 \times 10^3 \text{ CFU/mL} \tag{2.2}$$

3. คำนวณจำนวนประชากรต่อกรัมดินแห้งทั้งหมด

$$\text{Total CFU/g dry soil} = \frac{1.42 \times 10^3 \times 10^6 \times 100 \text{ mL}}{8.5 \text{ g}} = 1.67 \times 10^{10} \text{ CFU/g} \tag{2.3}$$

นั่นคือ ตัวอย่างดินเกษตรนี้มีประชากรแบคทีเรียเท่ากับ 1.67×10^{10} ซีเอฟยูต่อกรัมดินแห้ง

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 1

1. จงเปรียบเทียบโครงสร้างผนังเซลล์และบทบาทเชิงนิเวศระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบในดิน
2. สารกลูมาลิน (Glomalin) มีบทบาทอย่างไรในการสร้างความเสถียรของเม็ดดินและการกักเก็บคาร์บอน
3. หากดินมีค่าความเป็นกรดรุนแรง (pH 4.2) จะส่งผลกระทบต่อสัดส่วนประชากรระหว่างเชื้อราและแบคทีเรียอย่างไร

4. จงอธิบายปรากฏการณ์ Nitrogen Immobilization เมื่อเกษตรกรไถกลบตอซังข้าวที่มีค่า C:N ratio สูง

บทที่ 3

วัฏจักรชีวธรณีเคมีและบทบาทของจุลินทรีย์

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 2

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. แนวคิดพื้นฐานของวัฏจักรชีวธรณีเคมีในระบบนิเวศการเกษตร
2. วัฏจักรไนโตรเจนและเอนไซม์วิทยาของการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ
3. กระบวนการไนตริฟิเคชัน ดีไนตริฟิเคชัน และการสูญเสียไนโตรเจนในแปลงเกษตร
4. วัฏจักรคาร์บอนและการย่อยสลายอินทรียวัตถุในดิน
5. วัฏจักรฟอสฟอรัสและบทบาทของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบาย ขั้น ตอน และ สมการ ปฏิกิริยา เคมี ใน วัฏจักร ไนโตรเจน คาร์บอน และ ฟอสฟอรัสในระบบนิเวศเกษตรได้อย่างถูกต้อง
2. ระบุชนิดและบทบาทของจุลินทรีย์จำเพาะที่ทำหน้าที่ในแต่ละขั้นตอนของวัฏจักรธาตุอาหารในดินได้อย่างครบถ้วน
3. วิเคราะห์กลไกการละลายฟอสเฟตด้วยกรดอินทรีย์และเอนไซม์ฟอสฟาเทสของจุลินทรีย์ดินได้อย่างถูกต้อง

4. คำนวณและประมาณปริมาณธาตุอาหารที่ปลดปล่อยจากการย่อยสลายซากพืชในแปลงปลูกได้อย่างถูกต้อง

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายเชิงวิชาการร่วมกับการวิเคราะห์แผนภาพเส้นทางการเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร
2. ปฏิบัติการทดสอบการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียบนอาหาร Pikovskaya Agar
3. การอภิปรายการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนเพื่อลดการปล่อยก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O)

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 2 และแผนผังเวกเตอร์วัฏจักรชีวธรณีเคมี
2. ชุดทดสอบการละลายแคลเซียมฟอสเฟตและวัดขนาดวงใส (Clear Zone)

การประเมินผล

1. การประเมินผลจากการทำแผนผังความคิด (Concept Mapping) สรุปวัฏจักรธาตุอาหาร
2. การทดสอบข้อเขียนและการคำนวณสมดุลมวลสารไนโตรเจน

3.1 ภาพรวมของวัฏจักรชีวธรณีเคมีในดิน

ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชไม่ได้มีอยู่อย่างไม่จำกัด แต่จะถูกหมุนเวียนเปลี่ยนรูปไปมาระหว่างสิ่งไม่มีชีวิต (บรรยากาศ แหล่งน้ำ หิน และดิน) กับสิ่งมีชีวิต (พืช สัตว์ และจุลินทรีย์) ผ่านกระบวนการทางเคมีและชีวภาพที่เรียกว่า **วัฏจักรชีวธรณีเคมี (Biogeochemical Cycles)**

จุลินทรีย์ดินทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (Biological Catalysts) ที่เปลี่ยนรูปธาตุอาหารที่พืชไม่สามารถดูดซึมได้ ให้อยู่ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ (Plant-Available Inorganic Forms) ผ่านกระบวนการแปรสภาพเป็นแร่ธาตุ (Mineralization) และตรึงธาตุอาหารกลับเข้าไปในชีวมวลผ่านกระบวนการสะสมธาตุอาหาร (Immobilization)

3.2 วัฏจักรไนโตรเจนในระบบเกษตรกรรม

ก๊าซไนโตรเจน (N_2) มีสัดส่วนถึง 78% ของปริมาตรบรรยากาศโลก ทว่าพืชไม่สามารถนำ N_2 มาใช้ประโยชน์ได้โดยตรง เนื่องจากมีพันธะสามโคเวเลนต์ ($N \equiv N$) ที่แข็งแรงอย่างยิ่ง การนำไนโตรเจนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารจึงต้องอาศัยจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์จำเพาะ

3.2.1 การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation: BNF)

กระบวนการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพเป็นปฏิกิริยารีดักชันที่เปลี่ยนก๊าซ N_2 ให้กลายเป็นแอมโมเนีย (NH_3) โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาคือเอนไซม์คอมเพล็กซ์ **ไนโตรจีเนส (Nitrogenase)** ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนเหล็ก (Fe protein) และโปรตีนโมลิบดีนัม-เหล็ก (MoFe protein) สมการปฏิกิริยาโดยรวมแสดงไว้ดังสมการ

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16\text{ATP} \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2NH_3 + H_2 + 16\text{ADP} + 16P_i \tag{3.1}$$

เนื่องจากเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะสูญเสียสภาพการทำงานอย่างถาวรเมื่อสัมผัสกับก๊าซออกซิเจน จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนจึงต้องมีกลไกปกป้องเอนไซม์ เช่น ในปมรากถั่วของเชื้อ *Rhizobium* จะมีโปรตีนสีแดงชื่อว่า **เลกฮีโมโกลบิน (Leghemoglobin)** ทำหน้าที่ดักจับออกซิเจนเพื่อรักษาแรงดันย่อยของออกซิเจนให้อยู่ในระดับต่ำมาก แต่ยังเพียงพอต่อการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรีย

3.2.2 กระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification)

ไนตริฟิเคชันเป็นกระบวนการออกซิเดชันของแอมโมเนียม (NH_4^+) กลายเป็นไนไตร์ต (NO_2^-) และตามด้วยไนเตรต (NO_3^-) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอ ดำเนินการโดยแบคทีเรียคีโมอโตโทรฟ 2 ขั้นตอน ดังนี้

1. **ขั้นตอนออกซิไดซ์แอมโมเนีย (Ammonia Oxidation)** โดยแบคทีเรีย *Nitrosomonas* ดังสมการ

$$2NH_4^+ + 3O_2 \xrightarrow{\text{Nitrosomonas}} 2NO_2^- + 4H^+ + 2H_2O + \text{พลังงาน} \tag{3.2}$$

2. **ขั้นตอนออกซิไดซ์ไนไตร์ต (Nitrite Oxidation)** โดยแบคทีเรีย *Nitrobacter* ดังสมการ

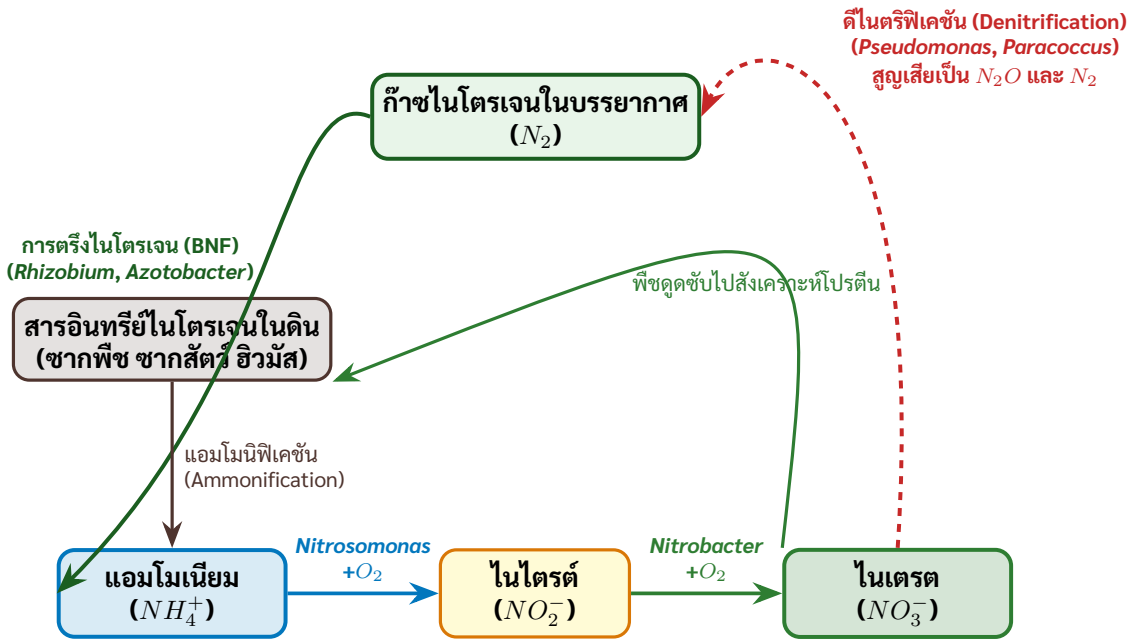
$$2NO_2^- + O_2 \xrightarrow{\text{Nitrobacter}} 2NO_3^- + \text{พลังงาน} \tag{3.3}$$

3.2.3 กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

เมื่อดินเกิดสภาวะน้ำท่วมขังและขาดออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มไม่ใช้ออกซิเจนแบบเลือกได้ (Facultative Anaerobes) เช่น *Pseudomonas stutzeri* และ *Paracoccus denitrificans* จะใช้ไนเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในการหายใจ ทำให้ไนเตรตถูกรีดิวซ์กลับเป็นก๊าซไนโตรเจนและก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ดังสมการ

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2 \tag{3.4}$$

ก๊าซไนตรัสออกไซด์เป็นก๊าซเรือนกระจกที่มีศักยภาพก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน (GWP) สูงกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 298 เท่า



ภาพที่ 3.1 **แผนผังวัฏจักรไนโตรเจนสมบูรณ์ในดินเกษตรกรรม (Complete Soil Nitrogen Cycle)**

3.3 วัฏจักรฟอสฟอรัสและจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

ฟอสฟอรัส (P) เป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการพัฒนาของระบบรากและการถ่ายโอนพลังงานในรูป ATP อย่างไรก็ตาม ฟอสฟอรัสในดินมากกว่า 95% มักอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เกิดการจับตัวกับเหล็ก ($FePO_4$) หรืออะลูมิเนียม ($AlPO_4$) ในดินกรด และจับกับแคลเซียม ($Ca_3(PO_4)_2$) ในดินด่าง

จุลินทรีย์ ละลาย ฟอสเฟต (Phosphate-Solubilizing Microorganisms) เช่น แบคทีเรีย *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida* และเชื้อรา *Aspergillus niger* สามารถละลายฟอสเฟตที่ถูกตรึงไว้ได้ผ่าน 2 กลไกสำคัญ

1. **การหลั่งกรดอินทรีย์ (Organic Acid Secretion)** จุลินทรีย์ผลิตกรดกลูโคนิก (Gluconic acid) กรดซิตริก (Citric acid) และกรดออกซาลิก (Oxalic acid) เพื่อลดค่า pH และทำปฏิกิริยาคีเลชัน (Chelation) กับไอออนโลหะ ($Fe^{3+}, Al^{3+}, Ca^{2+}$) ทำให้ปลดปล่อยออร์โธฟอสเฟต ($H_2PO_4^-$ หรือ HPO_4^{2-}) ออกสู่สารละลายดิน

2. **การหลั่งเอนไซม์ฟอสฟาเตส (Phosphatase Enzymes)** ย่อยสลายสารประกอบฟอสฟอรัสอินทรีย์ เช่น ไฟเตต (Phytate) และกรดนิวคลีอิก

3.3.1 กรณีศึกษาวิจัย แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อนในพื้นที่ปกปักทรัพยากรและดินสวนผลไม้

ในสภาพแปลงเกษตรกรรมเขตร้อนของประเทศไทย อุณหภูมิผิวดินในช่วงฤดูแล้งอาจสูงเกิน 40 องศาเซลเซียส ซึ่งส่งผลให้จุลินทรีย์ดินทั่วไปสูญเสียกิจกรรม การศึกษาของ **จิรภัทร จันทมาลี และ วาสนา ภักดี (Chanthamalee & Puckdee, 2017)** เรื่องการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อนจากพื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี (อพ.สธ.) และการคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี **(Chanthamalee et al., 2019)** ได้ค้นพบสายพันธุ์แบคทีเรียทนร้อนที่มีศักยภาพสูง

ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ทนร้อนสกุล *Bacillus* ที่คัดแยกได้สามารถเจริญและสร้างวงใสในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่อุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส โดยมีค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต (Solubilization Index: SI) สูงกว่า 2.5 ร่วมกับการลดลงของค่า pH ในน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 7.0 เหลือต่ำกว่า 4.2 เนื่องจากการหลั่งกรดกลูโคนิกและกรดแลกติก การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นศักยภาพอันโดดเด่นในการนำสายพันธุ์แบคทีเรียทนร้อนประจำถิ่นไปต่อยอดเป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพสำหรับสวนผลไม้เมืองร้อน

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร การใช้ปุ๋ยชีวภาพไมคอร์ไรซาร่วมกับหินฟอสเฟต

การใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (AMF) ร่วมกับหินฟอสเฟตบดละเอียดและจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต เป็นแนวทางเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสในสวนไม้ผลเมืองร้อน เส้นใยราไมคอร์ไรซาจะช่วยขยายพื้นที่ดูดซับฟอสเฟตที่จุลินทรีย์ละลายออกมา ส่งผลให้เกษตรกรสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตสังเคราะห์ลงได้ถึง 30–50%

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 2

1. จงอธิบายกลไกการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนส และเหตุใดเลกฮีโมโกลบินจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในปมรากถั่ว
2. สภาวะน้ำท่วมขังในแปลงปลูกส่งผลต่อกระบวนการไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันอย่างไร
3. จงวิเคราะห์กลไกทางเคมีที่จุลินทรีย์ใช้กรดอินทรีย์ในการละลายฟอสเฟตที่ถูกตรึง

ในดินกรด

4. เพราะ เหตุ ใด คุณสมบัติ การ ทน ร้อน (Thermotolerance) ของ แบคทีเรีย ละลายฟอสเฟตจึงมีความสำคัญต่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพในเขตภูมิอากาศร้อนชื้น

บทที่ 4

จุลินทรีย์บริเวณรากพืชและการส่งเสริมการเจริญเติบโต

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 3

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. นิเวศวิทยาบริเวณไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere Biology) และผลกระทบจากสารหลั่งรากพืช
2. แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) และการจำแนกประเภท
3. กลไกทางตรงและทางอ้อมในการส่งเสริมการเติบโตและการทนทานต่อความเครียด
4. ชีววิทยาของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (AMF)
5. การพัฒนาและใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ (Endophytic Microorganisms)

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายความหมายและองค์ประกอบของบริเวณไรโซสเฟียร์ ไรโซเพลน และเอนโดสเฟียร์ได้
2. วิเคราะห์กลไกการสังเคราะห์ฮอร์โมน IAA และเอนไซม์ ACC deaminase ของ PGPR ได้

3. อธิบายโครงสร้างและการแลกเปลี่ยนสารอาหารในระบบชีวภาพไมคอร์ไรซาได้
4. ออกแบบสูตรตำรับหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการแตกรากของกล้าไม้ผลได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและชมภาพจำลอง 3 มิติการเข้าอยู่อาศัยของแบคทีเรียบริเวณผิวราก
2. ปฏิบัติการย้อมสีรากพืชเพื่อตรวจหาโครงสร้าง Arbuscules ของเชื้อรา AMF
3. การตรวจวัดการผลิตฮอร์โมนออกซิน (IAA) ของแบคทีเรียด้วยน้ำยา Salkowski Reagent

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 3 และภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างทางกายภาพบริเวณรากพืช
2. ตัวอย่างรากข้าวโพดและรากพืชตระกูลถั่วที่ติดเชื้อไมคอร์ไรซา

การประเมินผล

1. การประเมินทักษะการเตรียมสไลด์รากพืชและบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์
2. การตอบคำถามเชิงวิเคราะห์กลไกความเครียดและการยืดอายุพืช

4.1 นิเวศวิทยาบริเวณไรโซสเฟียร์

คำว่า **"ไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere)"** ได้รับการบัญญัติขึ้นเป็นครั้งแรกในคริสต์ศักราช 1904 โดย **โลเรนซ์ ฮิลต์เนอร์ (Lorenz Hiltner, 1862–1923)** นักจุลชีววิทยาและพยาธิวิทยาพืชชาวเยอรมัน เพื่ออธิบายถึงบริเวณชั้นดินบางๆ ที่อยู่ติดกับผิวรากพืช (โดยทั่วไปอยู่ในระยะ 1–5 มิลลิเมตรจากผิวราก) ซึ่งได้รับอิทธิพลโดยตรงจากกิจกรรมและสารที่รากพืชปลดปล่อยออกมา

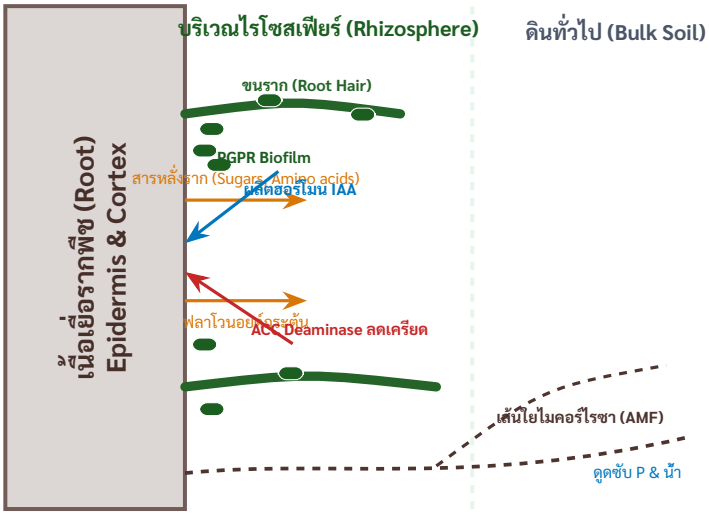
บริเวณรอบรากพืชสามารถแบ่งออกเป็น 3 โซนตามระยะห่างทางกายภาพ

1. **เอนโดสเฟียร์ (Endosphere)** เนื้อเยื่อภายในรากพืชซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของจุลินทรีย์เอนโดไฟต์
2. **ไรโซเพลน (Rhizoplane)** ผิวหน้าภายนอกของเซลล์ผิวราก (Epidermis) และขนราก (Root hairs)
3. **ไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere)** ชั้นดินรอบผิวรากที่อุดมไปด้วยสารหลั่งจากราก

รากพืชจะปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงออกมาสู่ไรโซสเฟียร์ในรูปของ **สารหลั่งจากราก (Root Exudates)** คิดเป็นสัดส่วนสูงถึง 10–40% ของคาร์บอนทั้งหมดที่พืชตรึงได้ สารเหล่านี้ประกอบด้วยน้ำตาล กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ วิตามิน และสารทุติยภูมิกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ส่งผลให้ความหนาแน่นของประชากรจุลินทรีย์บริเวณไรโซสเฟียร์สูงกว่าดินทั่วไป (Bulk Soil) มากถึง 10 ถึง 100 เท่า ซึ่งเรียกว่าปรากฏการณ์ **The Rhizosphere Effect (R/S ratio)**

4.2 แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR)

Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) คือกลุ่มแบคทีเรียในดินที่มีความสามารถในการเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืช (Root Colonization) และกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือเพิ่มความทนทานต่อสภาวะเครียดของพืช สกุลที่สำคัญได้แก่ *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, และ *Serratia*



ภาพที่ 4.1 ภาคตัดขวางรากพืชและปฏิสัมพันธ์เชิงบวกของจุลินทรีย์บริเวณไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere Interactions)

4.3 กลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

PGPR ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชผ่าน 2 กลุ่มกลไกหลัก ได้แก่

1. **กลไกทางตรง (Direct Mechanisms)**
   - **การผลิตไฟโตฮอร์โมน (Phytohormone Production)** แบคทีเรียใช้กรดอะมิโนทริปโตเฟน (L-Tryptophan) จากสารหลั่งรากเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน (Indole-3-acetic acid หรือ IAA) ซึ่งช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์ราก ส่งผลให้พืชแตกรากแขนงและขนรากเพิ่มขึ้น
   - **การสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase** ในสภาวะเครียด เช่น ภาวะแล้ง ดินเค็ม หรือน้ำท่วมขัง พืชจะผลิตฮอร์โมนเอทิลีนในปริมาณสูงเกินไปจนยับยั้งการเจริญเติบโต แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase จะเปลี่ยนสารตั้งต้น ACC ให้กลายเป็นแอมโมเนียและแอลฟา-คีโตบิวทีเรต ส่งผลให้ระดับเอทิลีนในเนื้อเยื่อพืชลดลงสู่ภาวะสมดุล
   - **การสร้างสารไซเดอโรฟอร์ (Siderophores)** เป็นสารประกอบคีเลตน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่มีความจำเพาะในการจับกับไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) สูงมาก ช่วยให้พืชดูดซึมธาตุเหล็กได้ในดินที่มีความเป็นด่าง
2. **กลไกทางอ้อม (Indirect Mechanisms)** การแก่งแย่งธาตุอาหารและพื้นที่ผิวราก การหลั่งสารต้านจุลชีพ และการกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันความต้านทานทั่วทั้งต้น (Induced Systemic Resistance หรือ ISR)

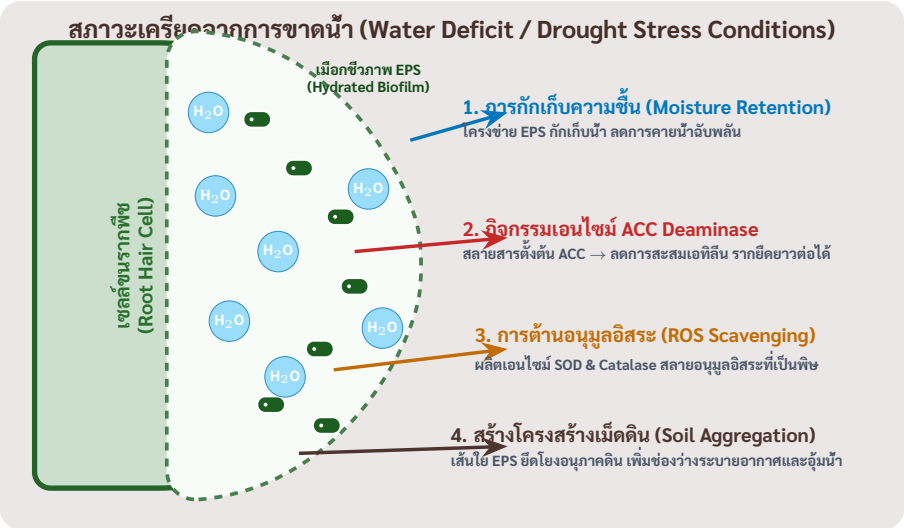
4.4 แบคทีเรียทนทานสภาวะเครียดและจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ในไม้ผล

การทำสวนผลไม้เศรษฐกิจในแถบภาคตะวันออกของประเทศไทย เช่น ทุเรียน มังคุด และเงาะ มักเผชิญกับข้อจำกัดทางสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน ทั้งภาวะฝนทิ้งช่วงในฤดูแล้ง อุณหภูมิ ผิว ดิน ที่ สูง เกิน 40 °C และ ดิน ที่ มี ความ เป็นก รด จัด งาน วิจัย ของ คณะ ผู้ วิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีจึงมุ่งเน้นการคัดแยกจุลินทรีย์พื้นถิ่นที่มีศักยภาพทนทานต่อสภาวะเครียดรุนแรง ดังนี้

4.4.1 แบคทีเรีย สร้าง พอ ลิ แซ็ก คา ไรด์ นอก เซลล์ ทน แล้ง (EPS-Producing Drought Tolerant Rhizobacteria)

Chanthamalee and Puckdee (2024) ได้คัดกรองแบคทีเรียบริเวณไรโซสเฟียร์จากดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี พบสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการเจริญเติบโตภายใต้แรงดันออสโมติกวิกฤตที่จำลองสภาวะแล้งด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene Glycol 6000 หรือ PEG-6000) ที่ความเข้มข้นสูง แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถพิเศษในการหลั่งสาร **พอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (Exopolysaccharides หรือ EPS)** ออกมาห่อหุ้มเซลล์และพื้นผิวขนรากพืช

เมือกชีวภาพ EPS ทำหน้าที่เป็นโครงข่ายไฮโดรเจลธรรมชาติ (Hydrated Biofilm Matrix) ที่สามารถดูดซับและกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้รอบเซลล์รากพืชได้มากกว่าน้ำหนักตัวหลายเท่า ช่วยรักษาความชุ่มชื้น ป้องกันการสูญเสียน้ำอย่างฉับพลันของเซลล์ขนราก และช่วยปรับสมดุลแรงดันออสโมติก นอกจากนี้ยังช่วยเกาะยึดอนุภาคดินเหนียวและดินร่วนให้รวมตัวกันเป็นเม็ดดินเสถียร (Water-stable Soil Aggregates) และมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คอยดักจับสารอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species หรือ ROS) ที่พืชสร้างขึ้นในยามเครียดแล้ง ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 กลไกของแบคทีเรียบริเวณรากพืชที่สร้างพอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (EPS) ในการปกป้องขนรากพืชภายใต้สภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (ดัดแปลงจาก Chanthamalee & Puckdee, 2024)

4.4.2 พีจีพีอาร์ทนทานหลายสภาวะเครียด (Multi-Stress Tolerant PGPR)

Chanthamalee, Puckdee, and Thassana (2025) ศึกษาสมบัติของ PGPR ที่ทนทานต่อสภาวะเครียดแบบพหุคูณ (Multi-stress tolerance) จากดินสวนผลไม้จังหวัดจันทบุรี พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์คัดเลือกสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิสูงถึง 45 °C ทนทานต่อความเป็นกรดจัดที่ระดับ pH 4.0 และทนความเค็มของเกลือ NaCl สูงถึง 5–7% ในขณะที่ยังคงรักษากิจกรรมการละลายฟอสเฟต การตรึงไนโตรเจน และการหลั่งฮอร์โมน IAA ส่งเสริมการงอกของเมล็ดและอัตราการเจริญของรากพืชทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.4.3 จุลินทรีย์เอนโดไฟต์ในทุเรียนพันธุ์เศรษฐกิจและพันธุ์พื้นเมือง

จุลินทรีย์เอนโดไฟต์ (Endophytic Microorganisms) คือจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชโดยไม่ก่อให้เกิดอาการของโรคและมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันอย่างแนบแน่น ได้แก่

- **แบคทีเรียเอนโดไฟต์ *Bacillus* sp. DMR-603** Chanthamalee and Puckdee (2025) ได้แยกแบคทีเรียเอนโดไฟต์สายพันธุ์ DMR-603 จากเนื้อเยื่อภายในของทุเรียนพันธุ์เศรษฐกิจ (เช่น พันธุ์หมอนทองและชะนี) พบว่ามีความสามารถในการผลิตฮอร์โมน IAA ในระดับสูง ผลิตสารไซเดอโรฟอร์จับธาตุเหล็ก และสามารถเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อรากและลำต้นของต้นกล้าทุเรียนได้อย่างเสถียร

- **แอกติโนมัยซีทเอนโดไฟต์ *Streptomyces* sp. PM-R01** Puckdee and Chanthamalee (2025) ประสบความสำเร็จในการแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดจันทบุรี พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชและกระตุ้นการสร้างความต้านทานโรคของระบบราก

4.5 ชีววิทยาของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi หรือ AMF) ในไฟลัม Glomeromycota เป็นเชื้อราที่เจริญอยู่ร่วมกับรากของพืชบกมากกว่า 80% ของสปีชีส์พืชทั่วโลก เส้นใยราจะแทงผ่านเซลล์ผิวรากเข้าไปยังคอร์เทกซ์และพัฒนาโครงสร้างแตกแขนงคล้ายต้นไม้เล็กๆ เรียกว่า **อาร์บัสคูล (Arbuscule)** ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการแลกเปลี่ยนสารอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ โดยพืชจะส่งน้ำตาลเฮกโซสและกรดไขมันให้แก่เชื้อรา แลกเปลี่ยนกับฟอสฟอรัส ไนโตรเจน สังกะสี และน้ำที่เส้นใยราดูดซับมาจากดินระยะไกล

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร การประยุกต์ใช้หัวเชื้อ PGPR ทนแล้งและ AMF ในไม้ผลเศรษฐกิจ

การใส่หัวเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียทนแล้งสร้าง EPS (*Bacillus* สายพันธุ์คัดเลือกจากสวนผลไม้จันทบุรี) ร่วมกับเชื้อราไมคอร์ไรซา *Rhizophagus irregularis* ในขั้นตอนการเตรียมหลุมปลูกทุเรียนและมังคุด ช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายของต้นกล้าหลังการย้ายปลูกจาก 65% เป็นมากกว่า 95% ทั้งยังช่วยให้ระบบรากเจริญเติบโตแผ่กว้างขึ้น ทำให้ต้นพืชทนทานต่อภาวะแล้งและฝนทิ้งช่วงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 3

1. สารหลั่งจากรากพืช (Root Exudates) ส่งผลให้เกิดความแตกต่างระหว่างไรโซสเฟียร์กับดินทั่วไปอย่างไร
2. จงอธิบายบทบาทของเอนไซม์ ACC Deaminase ในการช่วยให้พืชรอดชีวิตภายใต้สภาวะแล้งและดินเค็ม
3. พอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (EPS) ที่ผลิตโดยแบคทีเรียไรโซสเฟียร์มีกลไกช่วยปกป้องรากพืชในสภาวะขาดน้ำอย่างไร
4. แบคทีเรียเอนโดไฟต์ เช่น *Bacillus* sp. DMR-603 มีข้อได้เปรียบเหนือแบคทีเรียไร

โซสเฟียร์ทั่วไปอย่างไรในการส่งเสริมการเติบโตของไม้ผล

5. โครงสร้าง Arbuscule ของเชื้อราไมคอร์ไรซามีความสำคัญอย่างไรในการแลกเปลี่ยนสารอาหารระหว่างพืชและรา

บทที่ 5

จุลินทรีย์กับการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 4

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. นิยามและหลักการของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological Control)
2. กลไกหลักของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (การเป็นปรสิต การหลั่งสารต้านจุลชีพ และการชักนำภูมิคุ้มกัน)
3. ชีววิทยาและการประยุกต์ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.)
4. แบคทีเรียปฏิปักษ์กลุ่มบาซิลลัส (*Bacillus* spp.) และแอกทิโนมัยซีท
5. จุลินทรีย์ก่อโรคแมลงศัตรูพืช (แบคทีเรียบีที เชื้อราบิวเวอเรีย และไวรัสเอ็นพีวี)

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายกลไกทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อโรคพืชได้
2. ระบุชนิดของจุลินทรีย์ควบคุมชีววิธีและจับคู่กับโรคหรือแมลงศัตรูพืชเป้าหมายได้อย่างแม่นยำ

3. อธิบาย กลไก การ ออก ฤทธิ์ ของ สาร พิษ Cry protein จาก แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ได้
4. ผลิตและขยายหัวเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนเมล็ดธัญพืชตามหลักวิชาการได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและวิเคราะห์กลไก Dual Culture Assay ระหว่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กับเชื้อราก่อโรค
2. ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเชื้อราไตรโคเดอร์มาบนเมล็ดข้าวสุกและตรวจสอบความบริสุทธิ์
3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชีวภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 4 และภาพประกอบแผนผังกลไกชีววิธี
2. ตัวอย่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Dual Culture แสดงวงยับยั้ง (Inhibition Zone)

การประเมินผล

1. การตรวจประเมินคุณภาพหัวเชื้อสดไตรโคเดอร์มาที่นักศึกษาผลิตในชั่วโมงปฏิบัติการ
2. การทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกลไก ISR และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

5.1 หลักการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biological Control) หมายถึง การใช้สิ่งมีชีวิตหรือผลผลิตจากสิ่งมีชีวิตในการควบคุมและลดประชากรของสิ่งมีชีวิตก่อโรคหรือแมลงศัตรูพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ

การควบคุมโดยชีววิธีมีข้อได้เปรียบเหนือการใช้สารเคมีสังเคราะห์หลายประการ ได้แก่ มีความจำเพาะเจาะจงต่อสิ่งมีชีวิตเป้าหมายสูง ไม่ตกค้างสะสมในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม ไม่ทำลายแมลงผสมเกสรและสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ และไม่กระตุ้นให้ศัตรูพืชเกิดการกลายพันธุ์สร้างความต้านทานต่อยาอย่างรวดเร็ว

5.2 กลไกของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืชผ่าน 3 กลไกหลักที่ทำงานประสานกัน (Tripartite Mechanism) ได้แก่

5.2.1 1. การเป็นปรสิตบนเส้นใยรา (Mycoparasitism)

เป็นกระบวนการที่เชื้อราปฏิปักษ์ เช่น *Trichoderma* ตรวจจับสารสัญญาณเคมีจากเชื้อราก่อโรค (Chemotropism) เจริญเส้นใยเข้าไปแนบชิดและพันรัดรอบเส้นใยของเชื้อราเป้าหมาย จากนั้นจะสร้างโครงสร้างคล้ายปุ่มดูด (Appressorium-like structures) และหลั่งเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ (Cell Wall Degrading Enzymes หรือ CWDEs) ได้แก่ เอนไซม์ไคติเนส (Chitinase) เบตา-1,3-กลูคาเนส (β-1,3-glucanase) และโพรทีเอส (Protease) เพื่อเจาะทะลุผนังเซลล์และดูดกินสารอาหารภายในจนเซลล์เชื้อก่อโรคแตกสลาย

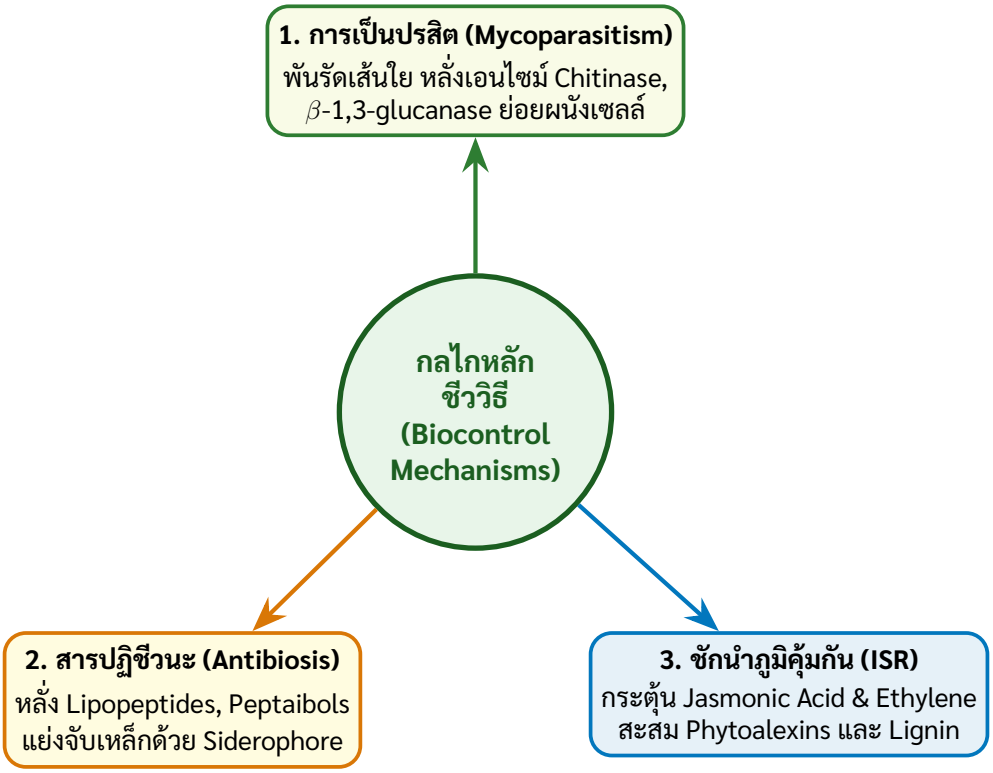
5.2.2 2. การสร้างสารปฏิชีวนะและการแก่งแย่ง (Antibiosis and Competition)

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลั่งสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรค เช่น เชื้อราไตรโคเดอร์มาผลิตสารกลุ่มเพปไทโบโลส์ (Peptaibols), วิริดิน (Viridin) และ 6-pentyl-α-pyrone (6-PP) ซึ่งมีกลิ่นหอมคล้ายมะพร้าว ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ผลิตสารลิโปเปปไทด์ (Lipopeptides) เช่น เซอร์แฟกติน (Surfactin), อิทูริน (Iturin) และเฟนจิซิน (Fengycin) ซึ่งแทรกตัวเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราก่อโรคทำให้เกิดรูรั่วและตายในที่สุด นอกจากนี้ การเจริญเติบโตอย่าง

รวดเร็วและการสร้างไซเดอโรฟอร์เพื่อแย่งชิงธาตุเหล็กยังช่วยตัดวงจรอาหารของเชื้อก่อโรคอีกด้วย

5.2.3 3. การชักนำให้พืชสร้างความต้านทานโรค (Induced Systemic Resistance หรือ ISR)

การเข้าครอบครองพื้นที่รากของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะส่งสัญญาณเตือนภัยทางชีวภาพกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืชผ่านวิถีกรดแจสโมนิก (Jasmonic acid) และเอทิลีน (Ethylene) ทำให้พืชสร้างสารต้านทานโรคทั่วทั้งต้น เช่น สารไฟโตอเล็กซิน (Phytoalexins) และสะสมลิกนินทำให้ผนังเซลล์พืชหนาขึ้น



ภาพที่ 5.1 แผนผังกลไก 3 ทิศทางของการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (Tripartite Biocontrol Mechanisms)

5.3 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์พื้นถิ่นเพื่อการควบคุมโรคไม้ผลในภาคตะวันออก

การระบาดของโรคพืชสำคัญในสวนผลไม้ภาคตะวันออก เช่น โรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* และโรคแอนแทรคโนสในผลไม้เมืองร้อนที่เกิด

จากเชื้อ *Colletotrichum* spp. ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาล การวิจัยทางจุลชีววิทยาการเกษตรของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีจึงมุ่งเน้นการค้นหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สายพันธุ์ท้องถิ่นที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้อย่างมีเสถียรภาพ ดังนี้

5.3.1 การคัดกรองแบคทีเรียปฏิปักษ์ต้านเชื้อราจากดินสวนผลไม้จันทบุรี

Chanthamalee and Puckdee (2023) ได้ดำเนินการสำรวจและคัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วม (Dual Culture Assay) ผลการทดสอบพบแบคทีเรียสายพันธุ์ท้องถิ่นที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราก่อโรคได้อย่างเด่นชัด โดยสร้างวงยับยั้งการเจริญ (Inhibition Zone) ที่กว้าง และผลิตสารเมแทบอไลต์นอกเซลล์ที่ทนความร้อนซึ่งช่วยลดการงอกของสปอร์เชื้อราได้อย่างมีนัยสำคัญ

5.3.2 แอกติโนมัยซีทปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. SR1301 จากพื้นที่ปกปักทรัพยากร อพ.สธ.

Puckdee and Chanthamalee (2026) ประสบความสำเร็จในการแยกและทดสอบเบื้องต้นถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเชื้อ *Streptomyces* sp. SR1301 ที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

เชื้อ *Streptomyces* sp. SR1301 สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีขอบเขตการต้านจุลชีพกว้างขวาง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของทั้งแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรคพืช โดยสารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเชื้อแสดงประสิทธิภาพการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อก่อโรค การค้นพบสายพันธุ์ SR1301 จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมสะท้อนถึงคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพจุลินทรีย์พื้นถิ่นในการนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปลอดภัยและยั่งยืน

5.4 จุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยจุลินทรีย์อาศัยเชื้อโรคเฉพาะเจาะจงที่ก่อให้เกิดโรคตายในแมลง ได้แก่

1. **แบคทีเรียบีที (*Bacillus thuringiensis* หรือ Bt)** ในระหว่างกระบวนการสร้างสปอร์ แบคทีเรียบีทีจะสร้างผลึกสารพิษโปรตีนรูปเพชร เรียกว่า δ-**endotoxin** หรือ **Cry protein** เมื่อแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนใยผักหรือหนอนเจาะสมอฝ้าย กัดกินผลึกพิษเข้าไป สภาวะความเป็นด่างสูงในกระเพาะอาหารของแมลง (pH > 9.0) จะละลายผลึกโปรตีนและเอนไซม์โปรตีเอสของแมลงจะตัดสายโปรตีนให้กลายเป็นสารพิษที่ออกฤทธิ์แทงทะลุเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร ทำให้แมลงหยุดกินอาหาร เกิดภาวะโลหิตเป็นพิษและตายภายใน 2–3 วัน

2. **เชื้อ รา ก่อ โรค แมลง บิ วเวอเรีย (*Beauveria bassiana*) และ เม ตา ไร เซี ยม (*Metarhizium anisopliae*)** สปอร์ (Conidia) ของเชื้อราจะเกาะติดกับผนังลำตัว (Cuticle) ของแมลง งอกท่อแทงทะลุเปลือกไคตินเข้าสู่ช่องลำตัว (Hemolymph) เพิ่มจำนวนเส้นใยและปล่อยสารพิษ Beauvericin หรือ Destruxin ทำลายอวัยวะภายใน เมื่อ แมลง ตาย เส้นใย ราสี ขาว หรือ สี เขียว จะ แทง ทะลุ ซาก แมลง ออก มาภายนอก

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร เทคนิคการขยายเชื้อสดไตรโคเดอร์มาบนเมล็ดข้าวสุก

การเตรียมเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดเพื่อใช้ในไร่สวน ให้ใช้ข้าวสารเจ้าผสมน้ำในอัตราส่วน 3 ต่อ 2 หุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าเมื่อข้าวดีดให้ดงต่อ 10 นาที ตักข้าวขณะยังร้อนใส่ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6x9 นิ้ว ถุงละ 250 กรัม พับปากถุงทิ้งให้เย็นสนิท จากนั้นหยดหัวเชื้อบริสุทธิ์ 2–3 หยด เขย่าให้เชื้อกระจายทั่ว เจาะรูระบายอากาศใต้หนังยางรัดปากถุง 15–20 รู บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่ร่มมีแสงสว่างรำไรเป็นเวลา 7 วัน จะได้สปอร์สีเขียวเข้มพร้อมใช้งาน ผสมน้ำอัตรา 50–100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นลงดินหรือทรงพุ่ม

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 4

1. จงอธิบายกลไก Mycoparasitism ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และระบุเอนไซม์สำคัญที่ใช้ย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค
2. สารพิษ Cry protein จากแบคทีเรียบีทีมีกลไกการทำลายแมลงศัตรูพืชอย่างไร และเหตุใดจึงมีความปลอดภัยสูงต่อมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น
3. จงเปรียบเทียบข้อแตกต่างระหว่างการชักนำความต้านทานแบบ ISR (Induced Systemic Resistance) กับ SAR (Systemic Acquired Resistance)

4. เชื้อ *Streptomyces* sp. SR1301 ที่ แยก จาก พื้นที่ ปก ปัก ทรัพยากร อพ.สธ. มรภ.รำไพพรรณี มีคุณลักษณะและศักยภาพเด่นในการนำมาประยุกต์เป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชอย่างไร

บทที่ 6

โรคพืชที่เกิดจากจุลินทรีย์และการจัดการ

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 5

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. มโนทัศน์พื้นฐานของสามเหลี่ยมการเกิดโรคพืช (The Plant Disease Triangle)
2. วงจรการพัฒนาและการแพร่ระบาดของโรคพืช (Disease Cycle)
3. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและโอโอไมซีทในพืชเศรษฐกิจ
4. โรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรียและกลไกการเข้าทำลายเนื้อเยื่อ
5. การจัดการโรคพืชแบบผสมผสาน (Integrated Disease Management หรือ IDM)

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายองค์ประกอบของสามเหลี่ยมการเกิดโรคพืชและความสัมพันธ์เชิงปฏิสัมพันธ์ได้
2. วินิจฉัยอาการและระบุชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชสำคัญในเขตร้อนได้
3. อธิบายกลไกการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและโรคเหี่ยวเขียวได้

4. ออกแบบแผนการควบคุมและจัดการโรคพืชแบบผสมผสานโดยลดการใช้สารเคมีได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและศึกษากล้องจุลทรรศน์ตรวจชิ้นเนื้อเยื่อพืชที่แสดงอาการเป็นโรค
2. ปฏิบัติการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากรอยแผลโรคแอนแทรคโนสและรากเน่าทุเรียน
3. การศึกษาดูงานแปลงทดสอบการจัดการโรคพืชของคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 5 และภาพแสดงอาการโรคพืชในระดับเซลล์และระดับแปลง
2. ตัวอย่างจริงของใบมะม่วงที่เป็นแอนแทรคโนส และรากทุเรียนที่เป็นโรครากเน่า

การประเมินผล

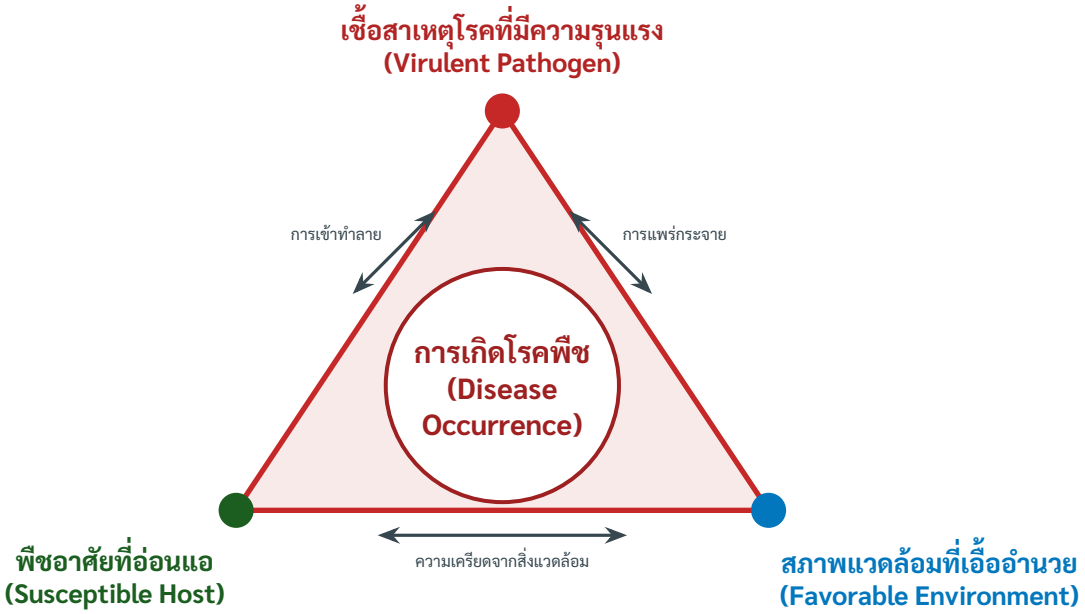
1. การประเมินความถูกต้องในการวินิจฉัยและระบุเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืช
2. การทดสอบการเขียนแผนจัดการโรคพืชแบบบูรณาการในสวนผลไม้

6.1 สามเหลี่ยมการเกิดโรคพืชและวงจรการระบาด

การเกิดโรคพืชไม่ได้ขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเพียงอย่างเดียว หากแต่เป็นผลลัพธ์ของปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 3 องค์ประกอบหลักที่เกิดขึ้นพร้อมกัน ซึ่งเรียกว่า **สามเหลี่ยมการเกิดโรคพืช (The Plant Disease Triangle)** ดังนี้

1. **พืช อาศัย ที่ อ่อนแอ (Susceptible Host)** พืชพันธุ์ ที่ ไม่มี ความ ต้านทาน ทางพันธุกรรม หรือพืชที่อ่อนแอจากสภาวะขาดน้ำ ขาดสารอาหาร หรือมีแผลเปิด
2. **เชื้อสาเหตุโรคที่มีความรุนแรง (Virulent Pathogen)** จุลินทรีย์ก่อโรคที่มีปริมาณหัวเชื้อ (Inoculum) เพียงพอและมีความสามารถในการเข้าทำลาย
3. **สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Favorable Environment)** อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ความชื้นในดิน และค่า pH ที่เอื้อต่อการงอกของสปอร์และการแพร่ระบาด

หากขาดปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งไป โรคพืชจะไม่สามารถเกิดขึ้นหรือลุกลามได้



ภาพ ที่ 6.1 สามเหลี่ยม การ เกิด โรค พืช (The Plant Disease Triangle) แสดงปฏิสัมพันธ์ขององค์ประกอบสำคัญ

6.2 โรคพืชสำคัญที่เกิดจากเชื้อราและโอโอไมซีท

เชื้อราและสิ่งมีชีวิตกลุ่มโอโอไมซีท (Oomycetes) เป็นกลุ่มสาเหตุโรคพืชที่มีจำนวนชนิดและก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจมากที่สุดในเขตร้อน ได้แก่

6.2.1 1. โรค ราก เน่า โคน เน่า และ ผล เน่า ทุเรียน (*Phytophthora palmivora*)

เชื้อ *Phytophthora palmivora* จัดอยู่ในกลุ่มโอโอไมซีท สร้างสปอร์ว่ายน้ำมีแฟลกเจลลา เรียกว่า **ซูโอสปอร์ (Zoospores)** ซึ่งสามารถว่ายน้ำในฟิล์มน้ำในดินเข้าหาปลายรากพืชตามแรงดึงดูดทางเคมีจากสารหลั่งราก เข้าทำลายเนื้อเยื่อเปลือกและท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้โคนต้นมียางไหลสีน้ำตาลแดง เปลือกเน่าเป็นสีดำ ใบเหลืองร่วง และยืนต้นแห้งตายในที่สุด ในช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 90% เชื้อสามารถระบาดขึ้นสู่ผลทำให้เกิดโรคผลเน่ารุนแรง

6.2.2 2. โรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* spp.)

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น มะม่วง ทุเรียน พริก และกล้วยไม้ ลักษณะอาการเด่นคือเกิดแผลยุบตัวรูปวงกลมหรือวงรีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ บนแผลมีหยดสปอร์สีส้มอมชมพู (Conidial masses) เรียงตัวเป็นวงซ้อนกัน เชื้อสามารถแฝงตัวอยู่ในเนื้อเยื่อพืชแบบสงบนิ่ง (Latent infection) และจะแสดงอาการรุนแรงเมื่อผลไม้เริ่มสุก

6.3 โรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย

แบคทีเรียก่อโรคพืชไม่มีอวัยวะในการเจาะทะลุผิวเซลล์พืชโดยตรง แต่จะเข้าสู่ต้นพืชผ่านทางบาดแผลธรรมชาติ (รอยหัก รอยแหว่งจากการตัดแต่งกิ่ง) หรือผ่านช่องเปิดธรรมชาติ เช่น ช่องปากใบ (Stomata), เลนทิเซล (Lenticels) และช่องเปิดหยดน้ำ (Hydathodes)

- **โรคเหี่ยวเขียว (*Ralstonia solanacearum*)** แบคทีเรียเข้าทำลายท่อน้ำ (Xylem vessels) ของพืชตระกูลมะเขือ พริก และมันฝรั่ง และสร้างเมือกพอลิแซ็กคาไรด์ (Extracellular Polysaccharides หรือ EPS) อุดตันท่อลำเลียงน้ำ ทำให้พืชเหี่ยวเฉาอย่างรวดเร็วทั้งที่ใบยังคงมีสีเขียวสด

- **โรคแคงเกอร์ส้ม (*Xanthomonas citri*)** ทำให้เกิดแผลตกสะเก็ดนูนสีน้ำตาล มีวงสีเหลืองล้อมรอบ (Yellow halo) บนใบ กิ่ง และผลส้ม มะนาว

6.4 เทคนิค การ วินิจฉัย โรค พืช ระดับ โมเลกุล ใน แปลงปลูก (LAMP Technique)

การ ควบคุม โรค พืช อย่าง มี ประสิทธิผล ขึ้น อยู่ กับ ความ รวดเร็ว และ ความ แม่นยำ ใน การ วินิจฉัยเชื้อสาเหตุตั้งแต่ระยะเริ่มแรกก่อนที่อาการจะลุกลาม วิธีดั้งเดิม เช่น การแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อต้องใช้เวลานาน 3–7 วัน ขณะที่เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ทั่วไปต้องอาศัยเครื่อง Thermocycler ราคาแพงและใช้เวลาวิเคราะห์หลายชั่วโมง

คณะผู้วิจัยของ ผศ.ดร.จิรภัทร จันทมาลี และคณะ จึงได้พัฒนาเทคนิคการเพิ่มขยายสาร พันธุกรรม ภาย ใต้ อุณหภูมิ คงที่ แบบ **Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)** เพื่อใช้ตรวจวินิจฉัยเชื้อก่อโรคพืชเศรษฐกิจสำคัญในแปลงปลูกได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำสูง ได้แก่

6.4.1 การตรวจหาเชื้อราไฟทอปธอราในทุเรียนด้วยเทคนิค LAMP

Thongphueak, Chanthamalee, Wachiralurpan, and Bhudharak (2022) ได้พัฒนาชุดตรวจ เทคนิค LAMP สำหรับ ตรวจ หา เชื้อ *Phytophthora* สาเหตุ โรค ราก เน่า โคน เน่า ใน ทุเรียน โดยออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ 4–6 เส้นเพื่อจับกับยีนเป้าหมาย การทำปฏิกิริยาเกิดขึ้นภายใต้อุณหภูมิคงที่ 63–65 °C เป็นเวลาเพียง 45–60 นาที โดยไม่ต้องใช้เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมราคาแพง สามารถตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อก่อโรคได้แม้มีปริมาณน้อยมากในระดับพิโคกรัม และอ่านผลได้ทันทีด้วยตาเปล่าจากการเปลี่ยนสีของสารบ่งชี้ เช่น คาลซีน (Calcein) หรือ ไฮดรอกซีแนฟทอลบลู (Hydroxynaphthol Blue หรือ HNB) โดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีส้มหรือม่วงเป็นสีเขียวเรืองแสงหรือฟ้าครามเมื่อผลเป็นบวก

6.4.2 การ ตรวจ หา เชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ใน มะม่วงน้ำดอกไม้

Thongphueak, Bhudharak, and Chanthamalee (2021) ประสบ ความ สำเร็จ ใน การ ประยุกต์ใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจหาเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ได้อย่างแม่นยำ แม้ในระยะแฝงตัวที่ผล

มะม่วง ยัง ไม่ แสดง อาการ ของ แผล ยุบ ช่วย ให้ ชาวสวน และ ผู้ ส่ง ออก สามารถ คัด กรอง ผลผลิตก่อนการขนส่ง ป้องกันความเสียหายทางเศรษฐกิจในตลาดต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ภาพที่ 6.2 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อก่อโรคพืชด้วยเทคนิค LAMP ภาคสนามแบบรวดเร็วและอ่านผลด้วยตาเปล่า (ดัดแปลงจาก Thongphueak, Chanthamalee et al., 2021, 2022)

ข้อควรระวังและการจัดการโรคพืช การจัดการโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนแบบผสมผสาน

ห้ามใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราฟอสฟอรัสแอซิดเพียงอย่างเดียว เนื่องจากเชื้อจะพัฒนาความต้านทานได้อย่างรวดเร็ว แนวทางที่ถูกต้อง ได้แก่

1. ปรับปรุงการระบายน้ำในแปลง ไม่ให้น้ำท่วมขังบริเวณโคนต้น
2. ปรับค่า pH ของดินให้อยู่ในช่วง 6.0–6.5 ด้วยปูนโดโลไมต์ เพื่อยับยั้งการสร้างซูโอสปอร์
3. ทาแผลที่โคนต้นและราดดินด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดร่วมกับปุ๋ยหมักอินทรีย์อย่างสม่ำเสมอ

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 5

1. หาก ต้องการ ควบคุม การ ระบาด ของ โรค พืช โดย การ ปรับ เปลี่ยน สภาพ แวดล้อม สามารถทำได้อย่างไรตามหลักการของสามเหลี่ยมการเกิดโรคพืช
2. จงอธิบายวงจรชีวิตและการแพร่ระบาดของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ในสวนทุเรียนช่วงฤดูฝน
3. การทดสอบการไหลของเมือกแบคทีเรีย (Bacterial Streaming Test) ในน้ำสะอาดใช้ตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวเขียวได้อย่างไร

4. เทคนิค LAMP มีข้อได้เปรียบที่โดดเด่นเหนือเทคนิค PCR ทั่วไปอย่างไร ในการนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในระดับแปลงเกษตรกร

บทที่ 7

จุลินทรีย์ในการหมักและการจัดการของเสียทางการเกษตร

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 6

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ปริมาณและลักษณะของวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในประเทศไทย
2. ชีววิทยาและลำดับขั้นการสืบแทนของจุลินทรีย์ในการทำปุ๋ยหมัก (Composting)
3. สภาวะที่เหมาะสมต่อการหมัก (อัตราส่วน C/N ความชื้น การถ่ายเทอากาศ และอุณหภูมิ)
4. กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนและการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas)
5. การบำบัดทางชีวภาพและการย่อยสลายสารเคมีเกษตรตกค้างด้วยจุลินทรีย์
6. นวัตกรรมการผลิตน้ำหมักชีวภาพและจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (PSB)

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายกลไกการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและการสืบแทนของจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักได้
2. คำนวณอัตราส่วน C/N ของวัตถุดิบผสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักได้อย่างถูกต้อง

3. อธิบาย 4 ขั้นตอนชีวเคมีในการหมักก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์และของเสียเกษตรได้
4. อธิบายวิถีการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทโดยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชได้
5. วางแผนและควบคุมกระบวนการหมักปุ๋ยอินทรีย์ให้ได้มาตรฐานความปลอดภัยได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและวิเคราะห์กราฟอุณหภูมิการหมักปุ๋ยในระดับอุตสาหกรรม
2. ปฏิบัติการตั้งกองปุ๋ยหมักและตรวจวัดอุณหภูมิ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง
3. การศึกษาและเขียนแผนผังวิถีการสลายสารเคมีกำจัดวัชพืชด้วยเอนไซม์ C-P lyase
4. การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดง (*Rhodopseudomonas palustris*)

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 6 และแผนภาพเวกเตอร์เส้นโค้งอุณหภูมิการหมัก
2. แผนผังวิถีเมแทบอลิซึมการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
3. เทอร์โมมิเตอร์ก้านยาวสำหรับวัดอุณหภูมิกองปุ๋ยหมัก

การประเมินผล

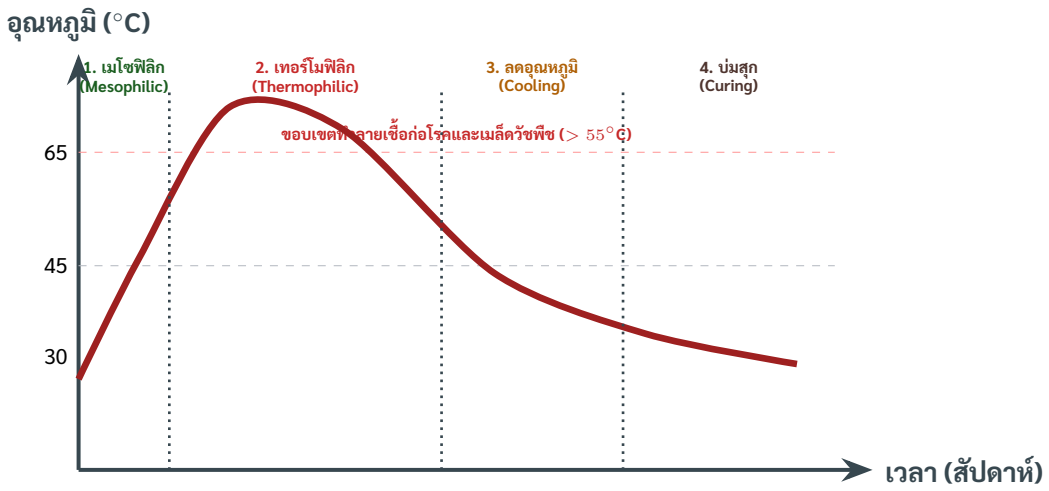
1. การประเมินผลการตรวจวัดคุณภาพปุ๋ยหมัก (ระดับการย่อยสลาย กลิ่น และสี)
2. การทดสอบการคำนวณสูตรผสมวัตถุดิบปุ๋ยหมักและวิถีย่อยสลายทางชีวเคมี

7.1 ชีววิทยาของการทำปุ๋ยหมักแบบใช้ออกซิเจน

การทำปุ๋ยหมัก (Composting) คือกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอ เพื่อเปลี่ยนเศษซากพืชและมูลสัตว์ให้กลายเป็นสารปรับปรุงดินที่มีความเสถียรและอุดมไปด้วยฮิวมัส (Humus) ซึ่งปราศจากเชื้อโรคพืช เมล็ดวัชพืช และกลิ่นเหม็น

ในระหว่างกระบวนการหมักแบบใช้ออกซิเจน พลังงานเคมีที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการหายใจระดับเซลล์ของจุลินทรีย์จะเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและการสืบแทนของกลุ่มจุลินทรีย์อย่างเป็นลำดับ 4 ระยะ ได้แก่

1. **ระยะเมโซฟิลิกเริ่มต้น (Initial Mesophilic Phase ช่วงอุณหภูมิ 20–45 °C)** จุลินทรีย์กลุ่มชอบอุณหภูมิปานกลาง (แบคทีเรียและเชื้อรา) เจริญอย่างรวดเร็ว โดยใช้น้ำตาลและกรดอะมิโนที่ย่อยง่าย ค่า pH อาจลดลงเล็กน้อยเนื่องจากการสร้างกรดอินทรีย์
2. **ระยะเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic Phase ช่วงอุณหภูมิ 45–70 °C)** เมื่ออุณหภูมิสูงเกิน 45 °C แบคทีเรียกลุ่มชอบความร้อนสูง เช่น *Bacillus stearothermophilus*, *Thermus* และแอกทิโนมัยซีททนร้อน จะเข้าแทนที่และเร่งย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส อุณหภูมิที่สูงกว่า 55 °C ติดต่อกันอย่างน้อย 3 วัน มีความสำคัญอย่างยิ่งในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืช ไข่พยาธิ และเมล็ดวัชพืชให้หมดไป
3. **ระยะลดอุณหภูมิ (Cooling Phase ช่วงอุณหภูมิ 45–35 °C)** เมื่อสารอาหารที่ย่อยง่ายลดลง กิจกรรมของจุลินทรีย์ชะลอตัว อุณหภูมิจะลดลง จุลินทรีย์กลุ่มเมโซไฟล์และเชื้อราจะกลับเข้ามาเจริญอีกครั้งเพื่อย่อยสลายลิกนินที่เหลืออยู่
4. **ระยะบ่มสุก (Maturation หรือ Curing Phase)** อุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิบรรยากาศ แอกทิโนมัยซีทและเชื้อราสร้างสารประกอบฮิวมัสที่เสถียร ปุ๋ยหมักที่ได้จะมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นคล้ายหน้าดินในป่า และพร้อมนำไปใช้



ภาพ ที่ 7.1 กราฟ แสดง การ เปลี่ยนแปลง อุณหภูมิ และ ระยะ การ ย่อย สลาย ใน กระบวนการทำปุ๋ยหมักแบบใช้ออกซิเจน

7.2 การ หมัก แบบ ไม่ ใช้ ออกซิเจน และ การ ผลิต ก๊าซ ชีวภาพ

การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Digestion หรือ AD) เป็นกระบวนการที่กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจนทำงานประสานกันเป็นลูกโซ่ทางชีวเคมี 4 ขั้นตอน ได้แก่

1. **ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)** เอนไซม์ภายนอกเซลล์ย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ (คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ลิพิด) ให้เป็นโมเลกุลเดี่ยว (กลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน)

2. **การสร้างกรด (Acidogenesis)** แบคทีเรียเปลี่ยนโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acids หรือ VFAs) เช่น กรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทีริก

3. **การสร้างกรดแอซีติก (Acetogenesis)** แบคทีเรียกลุ่มแอซีโตเจนเปลี่ยน VFAs ให้เป็นกรดแอซีติก (CH_3COOH), ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน (H_2)

4. **การสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenesis)** อาร์เคียกลุ่มเมทาโนเจน (Methanogenic Archaea) เช่น *Methanosarcina* และ *Methanobacterium* เปลี่ยนกรดแอซีติกและไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน (CH_4) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของก๊าซชีวภาพ (55–70%)

7.3 การ บำบัด ทาง ชีวภาพ และ การ ย่อย สลาย สาร เคมี เกษตรตกค้าง

การ ตกค้าง ของ สาร เคมี ทางการ เกษตร โดย เฉพาะ สาร กำจัด วัชพืช ประเภท ดูด ซึม เช่น **ไกล โฟ เสท (Glyphosate หรือ N-(phosphonomethyl)glycine)** และ สาร มลพิษ ไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมการเกษตร เป็นปัญหาเรื้อรังที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในดินและคุณภาพน้ำ การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์เพื่อการบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation) เป็นแนวทางที่เป็นมิตรต่อระบบนิเวศและมีประสิทธิภาพสูง

7.3.1 การย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทด้วยแบคทีเรีย PGPR

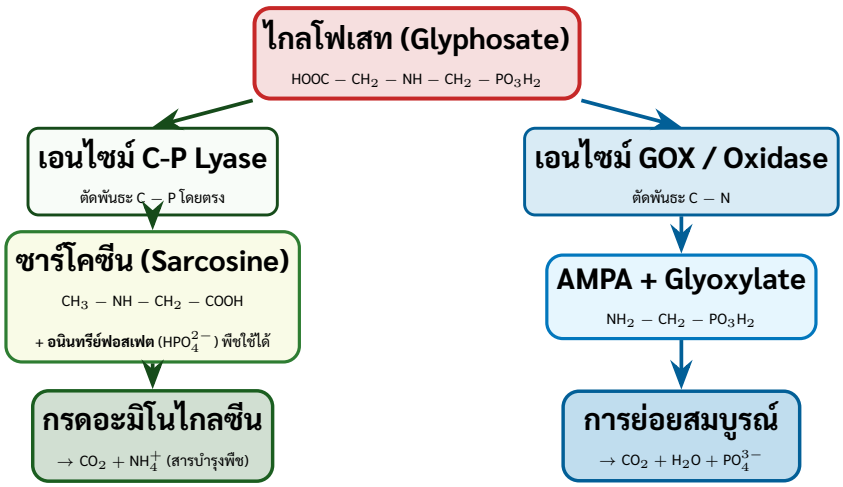
Saithong and Chanthamalee (2017) ได้ริเริ่มการคัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (PGPR) ที่มีคุณสมบัติพิเศษในการย่อยสลายไกลโฟเสท ต่อมา Chanthamalee and Waratchareeyakul (2020) ได้ศึกษาการย่อยสลายสารไกลโฟเสทในหลอดทดลอง (in vitro biodegradation) โดยใช้สายพันธุ์แบคทีเรีย PGPR คัดเลือก พบว่าแบคทีเรียสามารถใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งฟอสฟอรัสหรือแหล่งไนโตรเจนเพียงแหล่งเดียวในการเจริญเติบโต

กลไกทางชีวเคมีในการย่อยสลายไกลโฟเสทของแบคทีเรียเกิดขึ้นผ่าน 2 วิถีหลัก ดังแสดงในภาพที่ 7.2 ได้แก่

1. **วิถี C-P Lyase Pathway** เอนไซม์ Carbon-Phosphorus Lyase (C-P Lyase) ทำการตัดพันธะโควาเลนต์ระหว่างคาร์บอนกับฟอสฟอรัส (C–P bond) ในโมเลกุลไกลโฟเสทโดยตรง ทำให้ได้สารตัวกลางคือ ซาร์โคซีน (Sarcosine หรือ N-methylglycine) และปลดปล่อยอนินทรีย์ฟอสเฟต (P_i) ออกมา ซึ่งพืชและจุลินทรีย์สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันที จากนั้นเอนไซม์ Sarcosine Oxidase จะเปลี่ยนซาร์โคซีนให้กลายเป็นกรดอะมิโนไกลซีนและฟอร์มัลดีไฮด์

2. **วิถี AMPA Pathway** เอนไซม์ Glyphosate Oxidoreductase (GOX) ตัด พันธะ C–N ได้เป็นกรดอะมิโนเมทิลฟอสโฟนิก (Aminomethylphosphonic acid หรือ AMPA) และไกลออกซีเลต (Glyoxylate) ซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปจนเป็นน้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และฟอสเฟต

การใช้แบคทีเรีย PGPR ที่ย่อยสลายไกลโฟเสทได้จึงก่อให้เกิดประโยชน์ 2 ด้านควบคู่กัน (Dual Functions) คือ การลดความเป็นพิษของสารเคมีตกค้างในแปลงเกษตร และการปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์คืนสู่ระบบรากพืช



ภาพที่ 7.2 วิถีทางชีวเคมีในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทโดยแบคทีเรีย PGPR ผ่าน วิถี C-P Lyase และ AMPA (ดัดแปลง จาก Saithong & Chanthamalee, 2017; Chanthamalee & Waratchareeyakul, 2020)

7.3.2 การตรึงเซลล์จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษน้ำเสียและสารตกค้าง

Chanthamalee and Luepromchai (2012) ได้ค้นพบและประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Gordonia* sp. JC11 ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันหล่อลื่น ต่อมา Chanthamalee, Wongchitphimon, and Luepromchai (2013) ได้พัฒนาระบบการตรึงเซลล์ (Cell Immobilization) ของเชื้อ *Gordonia* sp. JC11 บนโฟมโพลียูรีเทน (Polyurethane Foam หรือ PUF) ซึ่งช่วยเพิ่มความทนทานของเซลล์แบคทีเรียต่อความเข้มข้นของสารมลพิษสูง และคงอัตราการย่อยสลายสารได้อย่างต่อเนื่องและนำกลับมาใช้ซ้ำได้หลายรอบ เทคโนโลยีการตรึงเซลล์นี้สามารถนำมาปรับใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งทางการเกษตรที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและน้ำมันเครื่องจักรกลเกษตรได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดงกับการเพิ่มผลผลิตข้าว

แบคทีเรีย สังเคราะห์ แสง กลุ่ม สี ม่วง และ แดง (*Rhodopseudomonas palustris*) สามารถใช้วัสดุอินทรีย์และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในดินนาข้าวเป็นแหล่งอิเล็กตรอนในการสังเคราะห์แสง ช่วยลดกลิ่นเหม็นและลดความเป็นพิษของซัลไฟด์ต่อรากข้าว พร้อมทั้งสังเคราะห์กรดอะมิโน 5-aminolevulinic acid (ALA) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการสร้างคลอโรฟิลล์ ทำให้ต้นข้าวเขียวนาน แตกกอดี และเมล็ดเต่ง

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 6

1. เหตุใดการรักษาอุณหภูมิในระยะ Thermophilic ($> 55°C$) จึงเป็นข้อกำหนดมาตรฐานในการผลิตปุ๋ยหมักทางการค้า
2. จงอธิบายบทบาทของจุลินทรีย์ใน 4 ขั้นตอนของการผลิตก๊าซชีวภาพ (Anaerobic Digestion)
3. หากกองปุ๋ยหมักมีอัตราส่วน C/N ratio สูงเกินไป (เช่น มากกว่า 60 ต่อ 1) จะส่งผลกระทบต่ออัตราการย่อยสลายอย่างไร
4. จงเปรียบเทียบวิถี C-P Lyase และวิถี AMPA ในการย่อยสลายสารไกลโฟเสทของแบคทีเรีย PGPR และวิเคราะห์ประโยชน์ที่พืชได้รับจากการย่อยสลายนี้

บทที่ 8

จุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมเกษตร แปรรูปและเทคโนโลยีชีวภาพ

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 7

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ขอบข่ายของเทคโนโลยีชีวภาพจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมเกษตร
2. จุลชีววิทยาของการหมักพืชอาหารสัตว์ (Silage Fermentation)
3. การประยุกต์ใช้โพรไบโอติก (Probiotics) และพรีไบโอติกในการปศุสัตว์
4. ชีววิทยาของการเพาะเห็ดเศรษฐกิจและการย่อยสลายเศษวัสดุเหลือทิ้ง
5. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Single-Cell Protein: SCP) และสารชีวภัณฑ์มูลค่าสูง

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายกระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์และบทบาทของแบคทีเรียกรดแลกติกได้
2. วิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของพืชหมักและการยับยั้งเชื้อสปอยเลจได้
3. อธิบายกลไกของโพรไบโอติกในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้

4. วางแผนกระบวนการเพาะเห็ดและการคัดเลือกวัสดุเพาะจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราได้อย่างเหมาะสม

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและศึกษากระบวนการหมักหญ้าเนเปียร์ในถังหมักแบบจำลอง
2. ปฏิบัติการวัดค่า pH และกรดแลกติกในตัวอย่างพืชหมัก
3. การศึกษาโครงสร้างเส้นใยเห็ดนางรมบนวุ้นอาหารและการเจริญบนขี้เลื่อย

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 7 และแผนภูมิกระบวนการหมักเชิงชีวเคมี
2. ตัวอย่างพืชหมักหญ้าเนเปียร์คุณภาพดีและพืชหมักที่เน่าเสีย

การประเมินผล

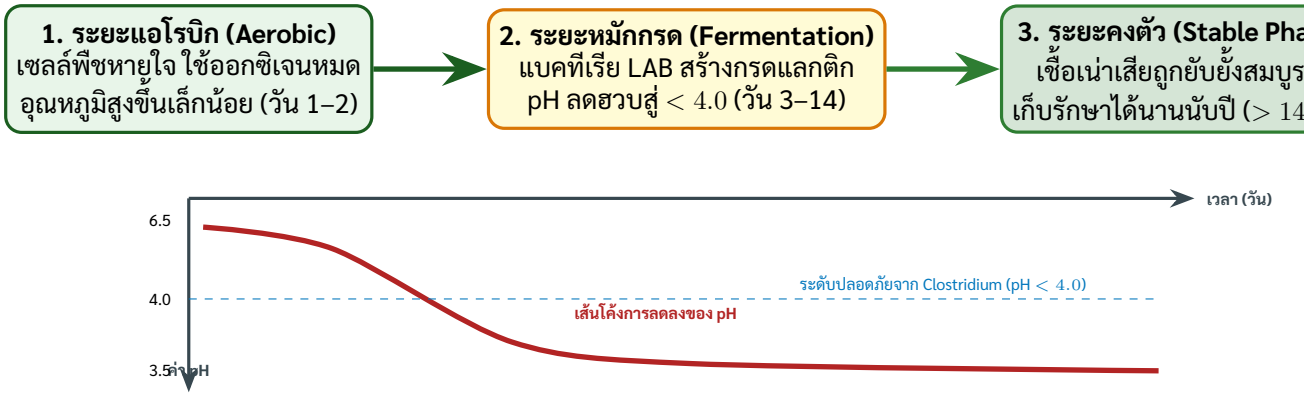
1. การประเมินผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและชีววิทยาของพืชหมัก
2. การทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้โพรไบโอติก

8.1 จุลชีววิทยาของการหมักพืชอาหารสัตว์

พืชอาหารสัตว์หมัก (Silage) เป็นวิธีการถนอมรักษาคุณค่าทางโภชนาการของพืชอาหารสัตว์ที่มีความชื้นสูง (เช่น ข้าวโพด หญ้าเนเปียร์ และยอดอ้อย) ไว้สำหรับเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง (โคเนื้อ โคนม) ในช่วงฤดูแล้ง โดยอาศัยการหมักของ **แบคทีเรียกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria: LAB)** ภายใต้สภาวะปิดที่ไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition)

เมื่อนำพืชอาหารสัตว์มาบดสับและอัดแน่นในหลุมหมัก (Silo) ออกซิเจนที่ค้างอยู่จะถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็วโดยการหายใจของเซลล์พืชและจุลินทรีย์กลุ่มแอโรบิก จากนั้นแบคทีเรียกรดแลกติก เช่น *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* และ *Enterococcus faecium* จะใช้น้ำตาลละลายน้ำ (Water-Soluble Carbohydrates: WSC) ในเนื้อเยื่อพืชเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดแลกติก (Lactic acid)

การสะสมของกรดแลกติกจะส่งผลให้ค่า pH ของพืชหมักลดลงอย่างรวดเร็วจาก 6.0 สู่ระดับต่ำกว่า 4.0–4.2 ซึ่งความเป็นกรดระดับนี้จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเน่าเสีย สปอร์ของเชื้อ *Clostridium butyricum* และเชื้อรา ทำให้พืชอาหารสัตว์สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานนับปีโดยไม่สูญเสียคุณค่าทางอาหาร



ภาพที่ 8.1 กระบวนการหมักพืชอาหารสัตว์ (Silage Fermentation) และพลวัตการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

8.2 โพรไบโอติกในอาหารสัตว์

หลังจากการประกาศแบนการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโตในอาหารสัตว์ (Antibiotic Growth Promoters: AGPs) ในระดับสากล จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotics) ได้กลายมาเป็นทางเลือกทดแทนอันดับหนึ่ง สารชีวภัณฑ์โพรไบโอติกประกอบด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์คัดเลือก เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีบทบาทสำคัญ ดังนี้

- การแข่งขันครอบครองพื้นที่ผิวเยื่อบุลำไส้ (Competitive Exclusion) กีดกันเชื้อก่อโรคในสัตว์ เช่น *Salmonella* และ *Escherichia coli*
- การ ผลิต กรด ไข มัน สาย สั้น (Short-Chain Fatty Acids: SCFAs) ช่วย เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหาร
- การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันประจำเยื่อเมือก (Mucosal Immunity) ในทางเดินอาหาร

8.3 การ เพาะ เห็ด เศรษฐกิจ กับ การ ย่อย สลา ยลิก โน เซลลูโลส

เชื้อเห็ดจัดอยู่ในกลุ่มราชั้นสูง (Basidiomycota) มีความสามารถพิเศษในการสร้างเอนไซม์กลุ่มลิกโนไลติก (Lignolytic enzymes) ได้แก่ เอนไซม์แลกเคส (Laccase), ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin Peroxidase) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase) ซึ่งสามารถตัดพันธะที่แข็งแรงในโมเลกุลลิกนินของขี้เลื่อยไม้ยางพารา ฟางข้าว และเปลือกข้าวโพด เปลี่ยนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้กลายเป็นดอกเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมด้วยโปรตีน วิตามิน และสารเบตากลูแคน (Beta-glucan) เสริมภูมิคุ้มกัน

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร การนำก้อนเชื้อเห็ดเก่ามาผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ

ก้อนเชื้อเห็ดที่หมดอายุการให้ผลผลิต (Spent Mushroom Substrate: SMS) ยังคงมีเส้นใยราและเอนไซม์ย่อยสลายหลงเหลืออยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาคลุกเคล้ากับมูลไก่และกากถั่วเหลือง แล้วผ่านการหมักแบบใช้ออกซิเจน จะได้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโปร่ง ร่วนซุย มีปริมาณอินทรียวัตถุสูง และมีเชื้อราปฏิปักษ์ช่วยป้องกันโรครากเน่าโคนเน่าได้อย่างยอดเยี่ยม

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 7

1. จงอธิบายบทบาทของแบคทีเรียกรดแลกติก (LAB) ในการถนอมอาหารสัตว์ และเหตุใดจึงต้องรักษาสภาพไร้ออกซิเจนในหลุมหมัก
2. หากค่า pH ของพืชหมักไม่สามารถลดลงต่ำกว่า 4.5 ภายในระยะเวลา 7 วันแรก จะเกิดผลกระทบต่อคุณภาพของพืชหมักอย่างไร
3. จงอธิบายกลไกของเอนไซม์กลุ่ม Lignolytic Enzymes ในเชื้อเห็ดต่อการย่อยสลาย

เศษวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพารา

บทที่ 9

จุลินทรีย์กับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการเกษตรยั่งยืน

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 8

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ภาคการเกษตรกับวิกฤตการณ์การปล่อยก๊าซเรือนกระจก (CH_4, N_2O, CO_2)
2. กลไกของจุลินทรีย์ในการสร้างและการลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก
3. การกักเก็บคาร์บอนในดิน (Soil Carbon Sequestration) และชีวมวลซากจุลินทรีย์ (Necromass)
4. ปฏิสัมพันธ์เชิงส่งเสริมระหว่างถ่านชีวภาพ (Biochar) กับจุลินทรีย์ดิน
5. การพัฒนาจุลินทรีย์ทนแล้งทนเค็มเพื่อรับมือกับภาวะสภาพอากาศสุดขั้ว

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. วิเคราะห์บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการปลดปล่อยและดูดซับก๊าซเรือนกระจกในแปลงเกษตรได้
2. อธิบายกลไกการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นคาร์บอนที่เสถียรในดินผ่าน Necromass ได้

3. อธิบายคุณสมบัติของ Biochar ในการเป็นแหล่งพักพิงและเพิ่มความอยู่รอดของจุลินทรีย์ดินได้
4. ออกแบบแนวทางการจัดการดินเพื่อลดการปล่อยก๊าซมีเทนและไนตรัสออกไซด์ในพื้นที่เกษตรได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและวิเคราะห์ข้อมูลฟลักซ์ก๊าซเรือนกระจกในระบบนิเวศเกษตร
2. การทดลองจำลองการตรึงจุลินทรีย์ลงในถ่านชีวภาพและประเมินอัตราการรอดชีวิต
3. การอภิปรายแนวทางการทำนาข้าวแบบเปียกสลับแห้ง (AWD) เพื่อลดก๊าซมีเทน

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 8 และแผนภาพแสดงสมดุลคาร์บอนในดิน
2. ตัวอย่างถ่านชีวภาพจากแกลบข้าวและกะลาทุเรียน

การประเมินผล

1. การประเมินผลจากการเขียนข้อเสนอโครงการจัดการดินเพื่อคาร์บอนเครดิตภาคเกษตร
2. การทดสอบความรู้เชิงลึกเกี่ยวกับวัฏจักรคาร์บอนและก๊าซเรือนกระจก

9.1 ภาคการเกษตรกับวิกฤตสภาพภูมิอากาศ

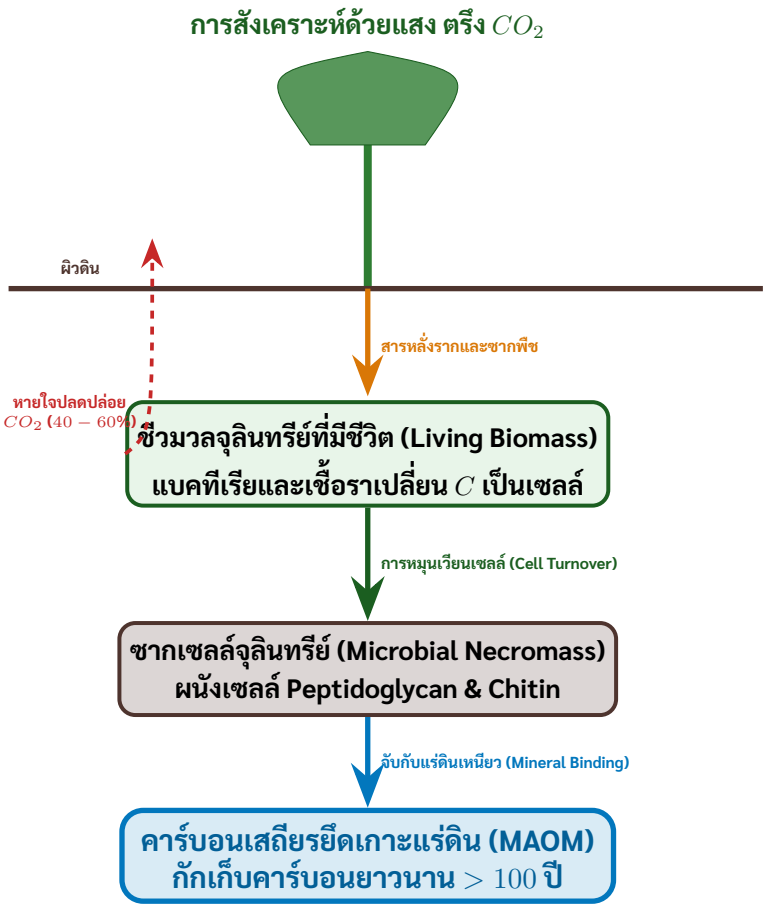
ภาคการเกษตรเป็นทั้งแหล่งปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse Gas Emissions) ที่สำคัญของโลก และในขณะเดียวกันก็เป็นภาคส่วนที่ได้รับผลกระทบจากความแปรปรวนของสภาพอากาศอย่างรุนแรงที่สุด ก๊าซเรือนกระจกหลัก 2 ชนิดที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินเกษตร ดังนี้

1. **ก๊าซมีเทน (CH_4)** เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของกลุ่มอาร์เคียเมทาโนเจน (Methanogens) ภายใต้สภาวะขาดออกซิเจนในแปลงนาข้าวที่มีน้ำท่วมขังยาวนาน และในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง
2. **ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O)** เกิดขึ้นจากกระบวนการไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์ เมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเคมีเกินความต้องการของพืช

9.2 การกักเก็บคาร์บอนในดินและชีวมวลซากจุลินทรีย์

มุมมองดั้งเดิมทางปฐพีศาสตร์เชื่อว่า สารฮิวมัสที่เสถียรในดินเกิดจากการตกค้างของสารประกอบโครงสร้างแข็ง เช่น ลิกนินจากพืช ทว่างานวิจัยทางชีววิทยาโมเลกุลในยุคปัจจุบันพิสูจน์แล้วว่า มากกว่า 50–80% ของอินทรีย์คาร์บอนที่เสถียรในดิน (Stable Soil Organic Carbon) มีที่มาจาก **ชีวมวลซากจุลินทรีย์ที่ตายแล้ว (Microbial Necromass)**

เมื่อเซลล์ของแบคทีเรียและเชื้อราตายลง ผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยเปปทิโดไกลแคน กลูแคน และไคติน จะแตกตัวออกและเข้าทำอันตรกิริยาทางเคมีกับอนุภาคดินเหนียวและออกไซด์ของเหล็ก/อะลูมิเนียม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแร่ธาตุกับสารอินทรีย์ (Mineral-Associated Organic Matter: MAOM) ซึ่งมีความคงทนต่อการย่อยสลายสูงมาก สามารถกักเก็บคาร์บอนไว้ในดินได้ยาวนานนับศตวรรษ



ภาพที่ 9.1 **วิถีการกักเก็บคาร์บอนในดินผ่านชีวมวลซากจุลินทรีย์ (Microbial Carbon Pump and Necromass)**

9.3 การเสริมฤทธิ์ระหว่างถ่านชีวภาพกับจุลินทรีย์

ถ่านชีวภาพ (Biochar) ผลิตจากการเผาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (แกลบ กะลามะพร้าว กากตะกอนอ้อย) ภายใต้สภาวะจำกัดออกซิเจน (Pyrolysis) มีโครงสร้างรูพรุนระดับนาโนและไมโครสูงมาก มีพื้นที่ผิวจำเพาะมากกว่า 200–400 ตารางเมตรต่อกรัม การใส่ถ่านชีวภาพร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลดีอย่างยิ่ง ดังนี้

- เป็นแหล่งพักพิงและปกป้องจุลินทรีย์ (Microhabitat refuge) จากการถูกล่าโดยโพรโทซัวและความร้อน
- เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำและดูดซับธาตุอาหารประจุบวก (CEC สูง)
- ลดการชะล้างปุ๋ยไนเตรตและลดการปล่อยก๊าซไนตรัสออกไซด์ได้ถึง 30–50%

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร การพัฒนาหัวเชื้อจุลินทรีย์ทนแล้งด้วยสารออสโมโพรเทกแทนท์

ในพื้นที่เกษตรที่ประสบภัยแล้งบ่อยครั้ง การคัดเลือกแบคทีเรีย PGPR ที่สามารถสังเคราะห์สารควบคุมแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ (Osmoprotectants) เช่น **ทรีฮาโลส (Trehalose)** และกรดอะมิโนโพรลีน (Proline) ตลอดจนแบคทีเรียที่ผลิตเมือกเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharides: EPS) ห่อหุ้มรากพืช จะช่วยรักษาความชื้นรอบรากและส่งสัญญาณให้พืชปิดปากใบอย่างสมดุล ส่งผลให้พืชยืนต้นรอดพ้นช่วงวิกฤตแล้งได้ดีกว่าปกติ

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 8

1. ซากเซลล์จุลินทรีย์ (Microbial Necromass) มีบทบาทอย่างไรในการกักเก็บคาร์บอนระยะยาวในดิน
2. การจัดการน้ำในแปลงนาข้าวแบบเปียกสลับแห้ง (Alternate Wetting and Drying: AWD) ช่วยลดการปล่อยก๊าซมีเทนได้อย่างไรในเชิงจุลชีววิทยา
3. โครงสร้างรูพรุนของถ่านชีวภาพ (Biochar) มีประโยชน์ต่อการอยู่รอดของแบคทีเรีย PGPR ในดินทรายอย่างไร

บทที่ 10

การประยุกต์ใช้ AI และโอมิกส์สมัยใหม่ในจุลชีววิทยาการเกษตร

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 9

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิมและการก้าวสู่ยุคโอมิกส์ (Omics Era)
2. เทคนิคดีเอ็นเอรหัสแท่ง (DNA Metabarcoding) 16S rRNA และ ITS
3. เมตาเจโนมิกส์แบบช็อตกัน (Shotgun Metagenomics) และการอ่านลำดับเบสแบบสายยาว (Nanopore)
4. ชีว สารสนเทศ ศาสตร์ และ การ วิเคราะห์ โครงสร้าง ความ หลาก หลาย ของ ชุมชนจุลินทรีย์
5. การ ประยุกต์ ใช้ ปัญญา ประดิษฐ์ (AI) ใน การ พยากรณ์ โรค พืช และ ประเมิน ดัชนีสุขภาพดิน

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายหลักการของปรากฏการณ์ The Great Plate Count Anomaly ได้
2. อธิบายขั้นตอนการสกัด DNA และการหาลำดับเบส 16S rRNA และ ITS ได้

3. วิเคราะห์ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Alpha และ Beta Diversity) จากข้อมูลจีโนมได้
4. อธิบายการนำแบบจำลอง Machine Learning มาทำนายการระบาดของโรคพืชในแปลงเกษตรแม่นยำได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายประกอบการสาธิตการใช้ฐานข้อมูลชีวสารสนเทศศาสตร์ (NCBI, SILVA, UNITE)
2. ปฏิบัติการคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ข้อมูล FASTQ ด้วยโปรแกรม QIIME2 หรือ Galaxy Platform
3. การศึกษาแบบจำลองปัญญาประดิษฐ์ในการจำแนกกลุ่มดินอุดมสมบูรณ์จากโปรไฟล์ไมโครไบโอม

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารคำสอนบทที่ 9 และผังกระบวนการวิเคราะห์เมตาเจโนมิกส์ด้วย AI
2. ชุดข้อมูลตัวอย่าง 16S rRNA Amplicon จากดินสวนทุเรียนภาคตะวันออก

การประเมินผล

1. การตรวจรายงานการวิเคราะห์และแปลผลกราฟความหลากหลายของจุลินทรีย์ดิน
2. การทดสอบความเข้าใจเกี่ยวกับอัลกอริทึม Machine Learning ในเกษตรแม่นยำ

10.1 จากจุลชีววิทยาดั้งเดิมสู่ยุคโอมิกส์

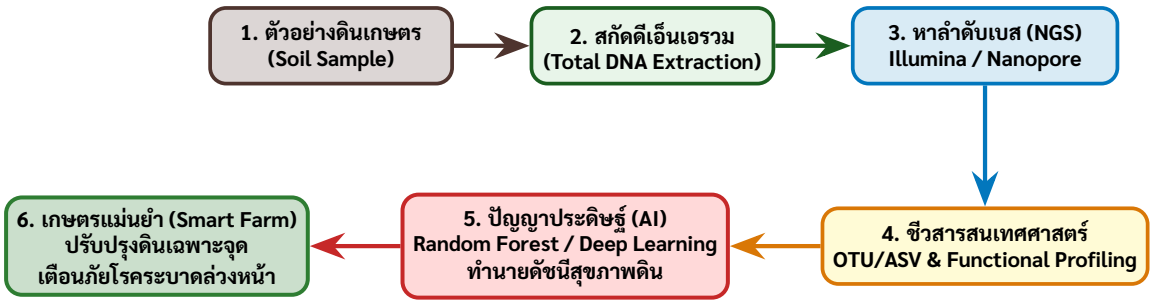
ในอดีต การศึกษาจุลินทรีย์ในดินอาศัยการแยกและเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Culture-dependent methods) ทว่านักจุลชีววิทยาได้ค้นพบปรากฏการณ์ที่เรียกว่า **The Great Plate Count Anomaly** ซึ่งระบุว่า จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินตามธรรมชาติมากกว่า 99% เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ (Unculturable Microorganisms) ด้วยสูตรอาหารมาตรฐานในปัจจุบัน

การ ก้าว เข้า มา ของ เทคโนโลยี พันธุ ศาสตร์ ระดับ โมเลกุล และ การ หา ลำดับ เบส ดีเอ็นเอ รุ่น ใหม่ (Next-Generation Sequencing: NGS) ได้ เปลี่ยน ผ่าน จุล ชีววิทยา การเกษตรเข้าสู่ยุค **เมตาเจโนมิกส์ (Metagenomics)** ซึ่งเป็นการสกัดและวิเคราะห์สารพันธุกรรม ทั้งหมด ของ ชุมชน จุลินทรีย์ โดยตรง จาก ตัวอย่าง ดิน ภาค สนาม ทำให้ มนุษย์ สามารถมองเห็น “สิ่งมีชีวิตที่ซ่อนเร้น (The Microbial Dark Matter)” ในดินได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์

10.2 เทคนิคดีเอ็นเอรหัสแท่งและเมตาเจโนมิกส์

การวิเคราะห์ไมโครไบโอมของดินในปัจจุบันใช้ 2 แนวทางหลัก ดังนี้

1. **แอมพลิคอนเมตาบาร์โคดดิ้ง (Amplicon Metabarcoding)** การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนจำเพาะด้วยเทคนิค PCR พร้อมวิเคราะห์ยีนเป้าหมาย ได้แก่
    - ยีน **16S rRNA** บริเวณ V3–V4 สำหรับระบุชนิดของแบคทีเรียและอาร์เคีย
    - ชิ้นส่วน **ITS (Internal Transcribed Spacer)** สำหรับระบุชนิดของเชื้อรา
2. **ช็อตกันเมตาเจโนมิกส์ (Shotgun Metagenomics)** การตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอทั้งหมดในตัวอย่างดินแล้วนำมาหาลำดับเบสโดยตรง ทำให้ทราบทั้งชนิดของจุลินทรีย์ (Who is there?) และยีนการทำงานทางเมแทบอลิซึม (What can they do?) เช่น ยีนตรึงไนโตรเจน (*nifH*) ยีนย่อยฟอสฟอรัส (*phoD*) และยีนสังเคราะห์สารต้านจุลชีพ



ภาพที่ 10.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ชุมชนจุลินทรีย์ในดินด้วยเมตาเจโนมิกส์และปัญญาประดิษฐ์เพื่อเกษตรแม่นยำ

10.3 ปัญญาประดิษฐ์กับจุลชีววิทยาการเกษตรแม่นยำ

ข้อมูลลำดับเบสระดับเมตาเจโนมิกส์มีขนาดมหาศาล (Big Omics Data) ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลจุลินทรีย์หลายพันชนิดในแต่ละตัวอย่างดิน การนำเทคโนโลยีปัญญาประดิษฐ์ (AI) และการเรียนรู้ของเครื่อง (Machine Learning: ML) เช่น อัลกอริทึม Random Forest, Support Vector Machines (SVM) และโครงข่ายประสาทเทียมเชิงลึก (Deep Neural Networks) เข้ามาประมวลผล ก่อให้เกิดประโยชน์สำคัญ ดังนี้

1. **การสร้างดัชนีสุขภาพดินทางชีวภาพ (Soil Biological Health Index: SHI)** แบบจำลอง AI สามารถวิเคราะห์สัดส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และกลุ่มก่อโรค เพื่อให้คะแนนความสมบูรณ์ของดิน ทำให้เกษตรกรทราบสภาพดินล่วงหน้าก่อนการเพาะปลูก

2. **การพยากรณ์การเกิดโรคพืชล่วงหน้า (Early Disease Outbreak Prediction)** ตรวจจับการเพิ่มขึ้นของประชากรเชื้อก่อโรค เช่น *Phytophthora* หรือ *Ralstonia* ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นที่พืชยังไม่แสดงอาการเหี่ยวเฉา ทำให้สามารถควบคุมได้ทันท่วงที

3. **การออกแบบสูตรหัวเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะบุคคล (Customized Bio-Inoculants)** ปัญญาประดิษฐ์ช่วยจับคู่กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์ (Synthetic Communities: Syn-Com) ที่ทำงานเสริมฤทธิ์กันได้อย่างแม่นยำสำหรับชนิดพืชและชุดดินเฉพาะพื้นที่

กรณีศึกษางานวิจัย การใช้ Nanopore Sequencing ร่วมกับ AI ในสวนทุเรียนเมืองจันทบุรี

งานวิจัยร่วมระหว่างคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ได้ทดสอบการใช้เครื่องอ่านดีเอ็นเอขนาดพกพา Oxford Nanopore MinION ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอจุลินทรีย์ในแปลงทุเรียน ผลการวิเคราะห์ด้วยโมเดล Machine Learning สามารถจำแนกความแตกต่างของไมโครไบโอมระหว่างดินที่เกิดโรครากเน่าและดินที่มีสุขภาพดีได้แม่นยำถึง 94.2% โดยพบว่าในดินสุขภาพดีมีประชากรเชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Streptomyces* สูงกว่าแปลงที่มีโรคอย่างมีนัยสำคัญ

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 9

1. จงอธิบายสาเหตุของปรากฏการณ์ The Great Plate Count Anomaly ในจุลชีววิทยาของดิน
2. เหตุใดการวิเคราะห์ 16S rRNA จึงสามารถใช้จำแนกชนิดของแบคทีเรียในดินได้
3. ปัญญาประดิษฐ์ (AI) มีบทบาทอย่างไรในการนำข้อมูลขนาดใหญ่จากเมตาเจโนมิกส์มาประยุกต์ใช้ในการทำเกษตรแม่นยำ (Precision Agriculture)

บทที่ 11

ปัญญาประดิษฐ์และการเรียนรู้เชิงลึกในจุลชีววิทยาการเกษตร

แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 10

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

1. สถาปัตยกรรมโครงข่ายประสาทเทียมเชิงลึก (Deep Neural Network Architecture)
2. การเรียนรู้เชิงลึก (Deep Learning) สำหรับการวินิจฉัยโรคพืชจากภาพและสัญญาณ
3. Transformer Model กับการวิเคราะห์จีโนมและโปรตีโอมของจุลินทรีย์
4. การเรียนรู้เสริม (Reinforcement Learning) กับการเพิ่มประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์
5. ปัญญาประดิษฐ์อธิบายได้ (Explainable AI: XAI) กับการตัดสินใจทางการเกษตร
6. Federated Learning กับระบบเกษตรอัจฉริยะขนาดใหญ่

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายสถาปัตยกรรม CNN, RNN, Transformer และการประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตรได้

2. วิเคราะห์กรณีศึกษาการใช้ Deep Learning วินิจฉัยโรคพืชและประเมินสุขภาพดินได้
3. เปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดของอัลกอริทึม AI แต่ละประเภทในบริบทเกษตรกรรมได้
4. อธิบายหลักการของ Explainable AI และความสำคัญในการนำไปใช้จริงในแปลงเกษตรได้

กิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยายและสาธิตการใช้ Google Teachable Machine หรือ Hugging Face ในการจำแนกภาพโรคพืช
2. กิจกรรมกลุ่ม: วิเคราะห์ Case Study การใช้ AI ในฟาร์มอัจฉริยะระดับนานาชาติ
3. ปฏิบัติการ: ทดลองใช้ Large Language Model ตอบคำถามทางจุลชีววิทยาเกษตร

การประเมินผล

1. การนำเสนอรายงานวิเคราะห์การประยุกต์ใช้ AI ในงานวิจัยจุลชีววิทยาเกษตรที่สนใจ
2. ข้อสอบอัตนัยวิเคราะห์ข้อดี-ข้อจำกัดของ Deep Learning ในบริบทเกษตรกรรมไทย

11.1 ภาพรวมของปัญญาประดิษฐ์ในจุลชีววิทยาเกษตร

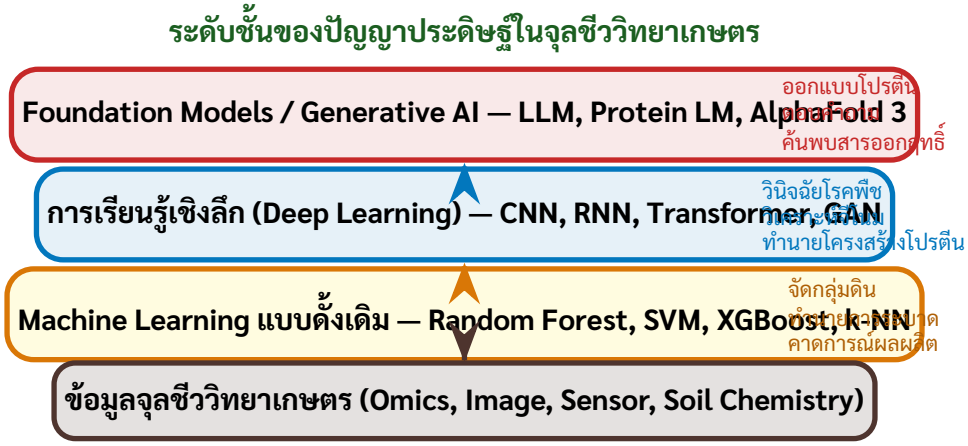
ปัญญาประดิษฐ์ (Artificial Intelligence: AI) ในบริบทของจุลชีววิทยาการเกษตร หมายถึงการนำระบบคอมพิวเตอร์ที่สามารถ "เรียนรู้" จากข้อมูลขนาดใหญ่มาวิเคราะห์และตัดสินใจเกี่ยวกับระบบนิเวศจุลินทรีย์ในดิน น้ำ และพืช ซึ่งมีความซับซ้อนเกินกว่าที่นักวิจัยจะวิเคราะห์ด้วยวิธีสถิติดั้งเดิมได้อย่างครบถ้วน

เทคโนโลยี AI ที่ประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตรแบ่งออกเป็น 3 ระดับหลัก ดังนี้

1. **Machine Learning แบบดั้งเดิม (Classical ML)** ได้แก่ Random Forest, Gradient Boosting, Support Vector Machine (SVM) และ k-Nearest Neighbors เหมาะสำหรับข้อมูลตาราง เช่น ข้อมูลสมบัติดิน ปริมาณธาตุอาหาร และผลการตรวจนับจุลินทรีย์

2. **การเรียนรู้เชิงลึก (Deep Learning)** ใช้โครงข่ายประสาทเทียมหลายชั้น เหมาะสำหรับข้อมูลที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ภาพถ่าย ลำดับเบส DNA และสัญญาณเวลาต่อเนื่อง

3. **Generative AI และ Foundation Models** ได้แก่ Large Language Models (LLM) และ Protein Language Models (PLM) ซึ่งสามารถสร้างความรู้ใหม่ ออกแบบโปรตีน และตอบคำถามวิทยาศาสตร์เชิงซับซ้อนได้



ภาพที่ 11.1 ระดับชั้นของเทคโนโลยีปัญญาประดิษฐ์และการประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาการเกษตร

11.2 Convolutional Neural Network กับการวินิจฉัยโรคพืช

Convolutional Neural Network (CNN) เป็นสถาปัตยกรรมโครงข่ายประสาทเทียมที่ออกแบบมาเพื่อประมวลผลข้อมูลภาพโดยเฉพาะ โดยใช้ตัวกรองคณิตศาสตร์ (Convolutional Filter) สแกนผ่านพิกเซลของภาพเพื่อตรวจจับลักษณะเด่น (Feature Extraction) ตั้งแต่ขอบเส้น (Edge) ไปจนถึงรูปแบบซับซ้อน เช่น สีของแผล เนื้อสัมผัสใบพืชที่เปลี่ยนแปลง หรือลักษณะโคโลนีจุลินทรีย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

11.2.1 การวินิจฉัยโรคพืชจากภาพถ่ายด้วย CNN

งานวิจัยในยุคปัจจุบันได้นำโมเดล CNN ที่ผ่านการฝึกล่วงหน้า (Pre-trained Models) อาทิ **ResNet-50**, **EfficientNet**, **Vision Transformer (ViT)** มาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค **Transfer Learning** ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ในบริบทการเกษตรไทย ดังนี้

- **โรคใบไหม้ทุเรียน (Phytophthora Leaf Blight)** โมเดล EfficientNet-B4 ที่ฝึกด้วยภาพใบทุเรียนจำนวน 8,000 ภาพ จำแนกระยะความรุนแรงได้ 5 ระดับ ด้วยความแม่นยำ 96.3% บนอุปกรณ์ Raspberry Pi
- **โรคแอนแทรคโนสมะม่วง (*Colletotrichum gloeosporioides*)** การผสมผสาน CNN กับ Hyperspectral Imaging ตรวจพบการติดเชื้อระยะ Latent ก่อนปรากฏอาการ 5–7 วัน
- **โรคราแป้งมะเขือเทศ (Powdery Mildew)** โมเดล YOLOv8-seg วิเคราะห์ภาพโดรนและประเมินพื้นที่ติดเชื้อแบบ Real-time

11.2.2 การวิเคราะห์ภาพจุลทรรศน์และโคโลนีจุลินทรีย์ด้วย AI

- **การนับโคโลนีอัตโนมัติ (Automated Colony Counting)** โมเดล Mask R-CNN และ SAM (Segment Anything Model) นับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อได้แม่นยำและเร็วกว่าการนับมือ 10–20 เท่า
- **การจำแนกชนิดเชื้อราจากภาพ Microscopy** Vision Transformer จำแนกสปอร์ของ *Phytophthora*, *Fusarium*, *Alternaria* จากภาพกล้องจุลทรรศน์ด้วยความแม่นยำมากกว่า 95%

- **การตรวจสอบคุณภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์** CNN ตรวจสอบความบริสุทธิ์และปริมาณสปอร์ในผลิตภัณฑ์ Bio-stimulant ก่อนออกจำหน่าย

11.3 Transformer และ Protein Language Models กับจีโนมิกส์จุลินทรีย์

Transformer Architecture ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้กับลำดับเบส DNA และกรดอะมิโน โดยถือว่าลำดับเบสทางชีวภาพเป็น “ภาษา” ที่มีไวยากรณ์และโครงสร้างความหมายเป็นของตนเอง

11.3.1 DNA Language Models และการวิเคราะห์จีโนมจุลินทรีย์

โมเดล **DNABERT-2**, **Nucleotide Transformer**, และ **HyenaDNA** ฝึกด้วยจีโนมของสิ่งมีชีวิตหลายล้านสายพันธุ์ สามารถ ดังนี้

- **ทำนายหน้าที่ยีนที่ไม่รู้จัก** จากจีโนมของจุลินทรีย์ดินที่สกัดด้วยเมตาเจโนมิกส์ ค้นพบยีนใหม่เกี่ยวกับการย่อยสลายสารพิษหรือการสังเคราะห์สารต้านจุลชีพ
- **ทำนายโครงสร้างควบคุมยีน** ตรวจสอบ Promoter และ Enhancer ของยีนควบคุมการตรึงไนโตรเจน (*nifH*) ในจุลินทรีย์ดิน
- **วิเคราะห์การถ่ายทอดยีนในแนวราบ (HGT)** ติดตามการแพร่กระจายของยีนดื้อต่อสารกำจัดศัตรูพืชในประชากรจุลินทรีย์ดิน

11.3.2 Protein Language Models และ การ ออกแบบ เอนไซม์ทางการเกษตร

Protein Language Models เช่น **ESM-2** จาก Meta AI และ **AlphaFold 3** จาก Google DeepMind ทำนายโครงสร้างสามมิติของโปรตีนจากลำดับกรดอะมิโนได้แม่นยำสูง การประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตร ดังนี้

- **ออกแบบเอนไซม์ย่อยสลายไกลโฟเสทประสิทธิภาพสูง** ทำนายการกลายพันธุ์ที่ทำให้ EPSPS-lyase ย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชได้เร็วและครบถ้วน ลดการสะสมสารพิษตกค้างในดิน
- **ค้นหาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่** วิเคราะห์โปรตีโอมของ *Streptomyces* สวนผลไม้จันทบุรีเพื่อค้นหาเปปไทด์ยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชโดยเฉพาะ

- **วิศวกรรมเอนไซม์ตรึงไนโตรเจน** เพิ่มประสิทธิภาพ Nitrogenase ใน *Rhizobium* ให้ทนทานต่ออุณหภูมิสูงในเขตร้อน

นิยามสำคัญ AlphaFold 3 กับการค้นพบสารชีวภัณฑ์ทางการเกษตร

AlphaFold 3 (Google DeepMind, 2024) ทำนาย โครงสร้าง สาม มิติ ของคอมเพล็กซ์โปรตีน-สารชีวโมเลกุลได้ในเวลาไม่กี่วินาที นักวิทยาศาสตร์เกษตรใช้ AlphaFold 3 วิเคราะห์ว่าสารสกัดจากจุลินทรีย์ดิน เช่น สาร Iturin จาก *Bacillus subtilis* จะจับกับโปรตีนในผนังเซลล์เชื้อราก่อโรคพืชได้อย่างไร ก่อนนำมาทดสอบจริงในห้องปฏิบัติการ ลดระยะเวลาการพัฒนาชีวภัณฑ์จากหลายปีเหลือเพียงไม่กี่สัปดาห์

11.4 Reinforcement Learning กับการเพิ่มประสิทธิภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์

การเรียนรู้เสริม (Reinforcement Learning: RL) เป็นกระบวนการที่ AI Agent เรียนรู้กลยุทธ์ที่ดีที่สุดจากการทดลองปฏิสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อม โดยได้รับรางวัล (Reward) หรือโทษ (Penalty) ตามผลลัพธ์ การประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตร ดังนี้

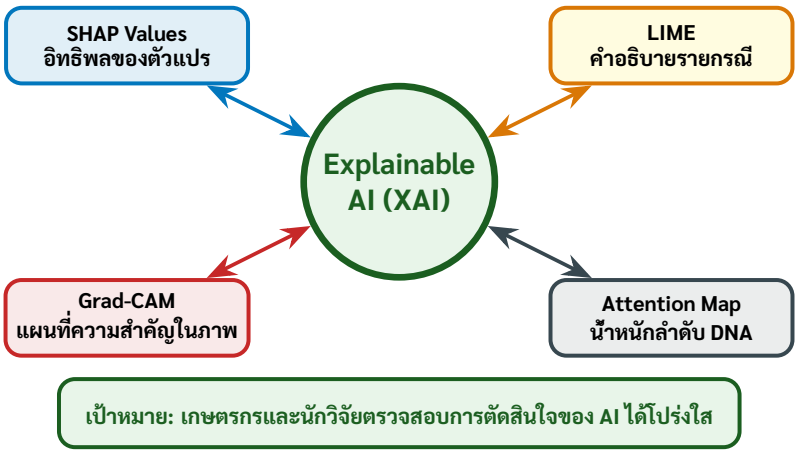
1. **การเพิ่มประสิทธิภาพสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (Fermentation Media Optimization)** RL Agent ปรับสัดส่วนคาร์บอน ไนโตรเจน แร่ธาตุ และ pH เพื่อเพิ่มการผลิตสารปฏิชีวนะหรือสารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียให้สูงสุด ภายใน 100–200 รอบจำลอง
2. **การออกแบบชุมชนจุลินทรีย์สังเคราะห์ (SynCom Design)** หาองค์ประกอบที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ที่ทำงานร่วมกันในหัวเชื้อผสม (Consortium) ได้อย่างแม่นยำ
3. **การควบคุมการพ่นหัวเชื้อแม่นยำ** RL ควบคุมโดรนพ่นหัวเชื้อเฉพาะจุดตามพิกัด GPS ลดการใช้หัวเชื้อได้ 30–50% ในขณะที่คงประสิทธิผลเท่าเดิม

11.5 Explainable AI กับ การ ตัดสิน ใจ เชิง เกษตร ที่ โปร่งใส

ปัญญาประดิษฐ์อธิบายได้ (Explainable AI: XAI) ทำให้เกษตรกรและนักวิจัยสามารถตรวจสอบได้ว่า AI ใช้ข้อมูลใดในการตัดสินใจ ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งก่อนนำคำแนะนำ

ของ AI ไปปฏิบัติในแปลงจริง เทคนิค XAI ที่นิยมใช้ ดังนี้

- **SHAP (SHapley Additive exPlanations)** วิเคราะห์ว่าตัวแปรใดมีอิทธิพลต่อการทำนายสูงสุด เช่น สรุปว่าปริมาณ *Bacillus* และ pH ดิน เป็นสองปัจจัยหลักที่มีผลต่อสุขภาพดิน
- **LIME (Local Interpretable Model-agnostic Explanations)** สร้างคำอธิบายรายกรณีเฉพาะ เช่น อธิบายว่าทำไม AI แนะนำหัวเชื้อ PGPR ชนิด A แทนชนิด B
- **Grad-CAM (Gradient-weighted Class Activation Mapping)** แสดงบริเวณในภาพที่ CNN ให้ความสำคัญในการวินิจฉัยโรคพืช ช่วยนักพยาธิวิทยาพืชตรวจสอบความถูกต้อง



ภาพที่ 11.2 เทคนิค Explainable AI (XAI) ที่ประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาการเกษตรเพื่อความโปร่งใสในการตัดสินใจ

11.6 Federated Learning กับเครือข่ายเกษตรอัจฉริยะ

Federated Learning (FL) เป็นเทคนิคการฝึกโมเดล AI ที่ข้อมูลยังคงอยู่ในอุปกรณ์ของเกษตรกรแต่ละราย โมเดลในอุปกรณ์เรียนรู้จากข้อมูลท้องถิ่น แล้วส่งเฉพาะ Model Weights มารวมกันที่เซิร์ฟเวอร์กลาง การประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตร ดังนี้

1. **เครือข่ายเฝ้าระวังโรคพืชระดับชาติ** เซ็นเซอร์ IoT ในแปลงทั่วประเทศฝึกโมเดลวินิจฉัยโรคพืชร่วมกันโดยไม่แบ่งปันภาพต้นทุน
2. **แพลตฟอร์มแบ่งปันโปรไฟล์ไมโครไบโอมดิน** ห้องปฏิบัติการและมหาวิทยาลัยร่วมพัฒนาโมเดลทำนายสุขภาพดินโดยไม่ต้องส่งข้อมูลเมตาเจโนมิกส์ขนาดมหาศาล

3. **ระบบแนะนำหัวเชื้อส่วนบุคคล** เกษตรกรได้รับคำแนะนำที่เหมาะสมกับดินของตนโดยเฉพาะ ขณะที่ระบบกลางเรียนรู้จากทุกแปลงโดยไม่ละเมิดความเป็นส่วนตัว

กรณีศึกษางานวิจัย Microbiome Foundation Model สำหรับเกษตรกรรมเขตร้อน

โครงการ **TropicMicroAI** (2025) พัฒนา Foundation Model สำหรับวิเคราะห์ไมโครไบโอมดินเขตร้อน ฝึกด้วยข้อมูลเมตาเจโนมิกส์จากดินสวนผลไม้และนาข้าวกว่า 15,000 ตัวอย่างจากมหาวิทยาลัยในไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ด้วยระบบ Federated Learning โมเดลทำนายดัชนีสุขภาพดิน (Soil Health Score) ในแปลงใหม่ได้ด้วยความแม่นยำ 91.7% และระบุ Biomarker จุลินทรีย์ระดับสกุล (Genus) ของดินที่มีปัญหาได้อย่างแม่นยำ

11.7 Large Language Models กับการเข้าถึงความรู้จุลชีววิทยาเกษตร

Large Language Models (LLM) เช่น **GPT-4o**, **Gemini** และโมเดลเฉพาะทาง เช่น **BioGPT**, **GeneGPT** เปลี่ยนแปลงวิธีที่นักวิจัยและเกษตรกรเข้าถึงความรู้ทางจุลชีววิทยาอย่างสิ้นเชิง การประยุกต์ใช้สำคัญ ดังนี้

- **การสังเคราะห์วรรณกรรมวิชาการ** LLM ประมวลบทความวิจัยหลายร้อยชิ้นและสรุปผลการศึกษาในรูปแบบที่ต้องการภายในไม่กี่นาที
- **ระบบผู้ช่วยวินิจฉัยโรคพืช (AI Plant Doctor)** เกษตรกรถ่ายภาพพืชผิดปกติ LLM Multimodal วิเคราะห์ภาพร่วมกับข้อมูลสภาพอากาศและดิน วินิจฉัยสาเหตุและแนะนำวิธีจัดการด้วยภาษาท้องถิ่น
- **การออกแบบโปรโตคอลการทดลอง** LLM สร้างโปรโตคอลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาโดยละเอียดพร้อมคาดการณ์ผลลัพธ์
- **การแปลความรู้สู่เกษตรกร** แปลผลวิเคราะห์ไมโครไบโอมดินเป็นคำแนะนำการจัดการดินที่เกษตรกรเข้าใจได้ในทันที

11.8 แนวโน้มอนาคตของ AI ในจุลชีววิทยาเกษตรไทย

ประเทศไทยมีโอกาสอันยิ่งใหญ่ในการใช้ AI ยกระดับห่วงโซ่คุณค่าทางการเกษตรตั้งแต่จุลินทรีย์ดินไปจนถึงผู้บริโภค แนวโน้มสำคัญในทศวรรษหน้า ดังนี้

1. **Digital Soil Microbiome Twin** สร้างแบบจำลองดิจิทัลของระบบนิเวศจุลินทรีย์ดินแบบ Real-time เพื่อทดสอบผลกระทบก่อนปฏิบัติจริงในแปลง
2. **AI-Guided Microbial Strain Breeding** ใช้ Generative AI ออกแบบการกลายพันธุ์แบบมีทิศทาง (Directed Evolution) ใน PGPR ให้ทนทานต่อสภาพอากาศร้อนแห้งแล้งที่รุนแรงขึ้น
3. **Agentic AI สำหรับห้องปฏิบัติการอัตโนมัติ** AI ควบคุมหุ่นยนต์ดำเนินการทดลอง คัดเลือกสายพันธุ์ ปรับสูตรอาหาร และบันทึกผลโดยอัตโนมัติ เร่งการค้นพบหัวเชื้อชีวภาพรุ่นใหม่

การประยุกต์ใช้ทางการเกษตร ข้อพิจารณาด้านจริยธรรมในการใช้ AI ทางการเกษตร

- **ความลำเอียงของข้อมูล (Data Bias)** โมเดล AI ที่ฝึกด้วยข้อมูลดินยุโรปอาจไม่เหมาะกับดินเขตร้อนของไทย จำเป็นต้องสร้างฐานข้อมูลท้องถิ่น
- **ทรัพย์สินทางปัญญาชีวภาพ** ข้อมูลไมโครไบโอมจากดินไทยมีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูง ต้องมีกรอบกฎหมายคุ้มครองก่อนนำไปฝึก AI
- **ความเท่าเทียมในการเข้าถึง** เกษตรกรรายย่อยและชุมชนท้องถิ่นควรได้รับประโยชน์จาก AI เช่นเดียวกับบรรษัทอุตสาหกรรมเกษตร

คำถามทบทวนท้ายบทที่ 10

1. จงอธิบายความแตกต่างระหว่าง CNN, RNN และ Transformer Architecture พร้อมยกตัวอย่างการประยุกต์ใช้ในจุลชีววิทยาเกษตรของแต่ละประเภท
2. Explainable AI (XAI) มีความสำคัญต่อการยอมรับ AI ในภาคเกษตรกรรมอย่างไร จงอธิบายพร้อมยกตัวอย่างเทคนิค XAI ที่ใช้ได้จริง
3. Federated Learning แก้ปัญหาด้านความเป็นส่วนตัวของข้อมูลในการวิจัยจุลชีววิทยาเกษตรได้อย่างไร และมีข้อจำกัดอะไรบ้าง
4. หากท่านเป็นนักวิจัยจุลชีววิทยาเกษตร ท่านจะออกแบบโครงการวิจัยที่นำ AI มาผสมผสานกับงานด้าน PGPR หรือการควบคุมโรคพืชชีวภาพได้อย่างไร

บทที่ A

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน สำหรับจุลินทรีย์การเกษตร

อาหาร เลี้ยง เชื้อ สังเคราะห์ ใน ห้อง ปฏิบัติ การ ทาง จุล ชีววิทยา การเกษตร มี ความ สำคัญ อย่างยิ่งในการแยกเชื้อ การเพิ่มปริมาณ และการทดสอบกิจกรรมทางชีวเคมี สูตรอาหารมาตรฐานที่นิยมใช้แพร่หลายมีดังนี้:

A.1 อาหาร เลี้ยง เชื้อ แบคทีเรีย ทั่วไป (Nutrient Agar: NA)

- สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract) ..... 3.0 กรัม
- เปปโทน (Peptone) ..... 5.0 กรัม
- วุ้น (Agar) ..... 15.0 กรัม
- น้ำกลั่น (Distilled water) ..... 1,000 มิลลิลิตร
- ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.8 $\pm$ 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

A.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา (Potato Dextrose Agar: PDA)

- มันฝรั่งปอกเปลือกหั่นเต๋า (Infusion from potatoes) ..... 200.0 กรัม

- เด็กซ์โทรส (Dextrose) ..... 20.0 กรัม
- วุ้น (Agar) ..... 18.0 กรัม
- น้ำกลั่น (Distilled water) ..... 1,000 มิลลิลิตร
- ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 5.6 $\pm$ 0.2

A.3 อาหารทดสอบการละลายฟอสเฟต (Pikovskaya's Agar)

ใช้สำหรับคัดแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (PSM) โดยสังเกตการเกิดวงใส (Clear Zone) รอบโคโลนี:

- กลูโคส (Glucose) ..... 10.0 กรัม
- แคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) ..... 5.0 กรัม
- แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ..... 0.5 กรัม
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ..... 0.2 กรัม
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ..... 0.1 กรัม
- แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 \cdot H_2O$) ..... 0.002 กรัม
- เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) ..... 0.002 กรัม
- สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ..... 0.5 กรัม
- วุ้น (Agar) ..... 15.0 กรัม
- น้ำกลั่น (Distilled water) ..... 1,000 มิลลิลิตร (pH 7.0 $\pm$ 0.2)

A.4 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนพืชตระกูลถั่ว (YEMA)

Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium*:

- แมนนิทอล (Mannitol) ..... 10.0 กรัม

- ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ..... 0.5 กรัม
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ..... 0.2 กรัม
- โซเดียมคลอไรด์ ($NaCl$) ..... 0.1 กรัม
- สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ..... 0.5 กรัม
- วุ้น (Agar) ..... 15.0 กรัม
- สีคองโกเรด (Congo red, 0.25%) ..... 10 มิลลิลิตร (สำหรับแยกความแตกต่าง)
- น้ำกลั่น (Distilled water) ..... 1,000 มิลลิลิตร (pH 6.8 $\pm$ 0.2)

บทที่ B

ตารางจำแนกจุลินทรีย์ในพืชเศรษฐกิจไทย

พืชเศรษฐกิจ	จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์	จุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญ
ข้าว (Rice)	- *Azospirillum brasilense* (ตรึงไนโตรเจน) - *Rhodopseudomonas palustris* (ลดซัลไฟด์) - *Trichoderma asperellum*	- *Magnaporthe oryzae* (โรคไหม้) - *Rhizoctonia solani* (โรคกาบใบแห้ง) - *Xanthomonas oryzae* (โรคขอบใบแห้ง)
ทุเรียน (Durian)	- *Trichoderma harzianum* (ชีววิธี) - *Bacillus amyloliquefaciens* - *Rhizophagus irregularis* (ไมคอร์ไรซา)	- *Phytophthora palmivora* (รากเน่าโคนเน่า) - *Colletotrichum gloeosporioides* (แอนแทรคโนส) - *Fusarium solani* (เน่าร่วม)
ยางพารา (Rubber)	- เชื้อราไมคอร์ไรซา (AMF) - *Streptomyces* spp. (ยับยั้งเชื้อรา)	- *Phytophthora botryosa* (ใบร่วง) - *Rigidoporus microporus* (โรครากขาว) - *Corynespora cassiicola* (ใบร่วง)
มันสำปะหลัง	- *Glomus* spp. (ช่วยดูดฟอสฟอรัส) - *Bacillus subtilis* (กระตุ้น แตกราก)	- *Xanthomonas axonopodis* (โรคใบไหม้) - ไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง (SLCMV)
อ้อย (Sugarcane)	- *Gluconacetobacter diazotrophicus* (แบคทีเรียเอนโดไฟต์ตรึงไนโตรเจนสูง)	- *Sporisorium scitamineum* (โรคแส้ดำ) - ไฟโตพลาสมา (โรคใบขาวอ้อย)

ตารางที่ B.1 การกระจายตัวของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชเศรษฐกิจหลักของไทย

บทที่ C

โปรโตคอลการตรวจวิเคราะห์และสกัดดีเอ็นเอจากดิน

C.1 โปรโตคอลการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอรวมจากดิน (Soil DNA Extraction)

การสกัด DNA จากดินมีความท้าทายเนื่องจากมีสารฮิวมัส (Humic substances) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ Taq polymerase ในปฏิกิริยา PCR ขั้นตอนมาตรฐานประกอบด้วย:

1. **การสลายเซลล์เชิงกลและเคมี (Cell Lysis)** ชั่งตัวอย่างดิน 0.25–0.50 กรัม ใส่ลงในหลอดสลายเซลล์ที่มีลูกปัดซิลิกา (Bead beating tube) เติม Lysis Buffer ที่มีสารซักฟอก SDS และสารยับยั้งเอนไซม์ EDTA นำไปเขย่าด้วยเครื่องบีดบีตเตอร์ (Bead Beater) ที่ความเร็ว 6.0 m/s เป็นเวลา 40 วินาที เพื่อสลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและสปอร์รา

2. **การกำจัดสารฮิวมัสและโปรตีน (Inhibitor Removal)** เติมสารละลายตกตะกอนโปรตีนและฮิวมิกแอซิด (Potassium acetate หรือ Ammonium acetate) บ่มที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เพื่อแยกตะกอนสิ่งเจือปนออก

3. **การจับดีเอ็นเอกับเมมเบรนซิลิกา (DNA Binding)** ดูดส่วนใสผสมกับสารละลาย Binding Buffer ที่มีเกลือคาโอโทรปิก (Chaotropic salts) ส่งผ่านคอลัมน์ซิลิกา (Silica-spin column) ดีเอ็นเอจะจับกับแผ่นกรองซิลิกาอย่างจำเพาะ

4. **การล้างสิ่งเจือปน (Washing)** ล้างคอลัมน์ด้วยสารละลาย 70% เอทานอล 2 ครั้ง เพื่อชะล้างเกลือและสารตกค้าง
5. **การชะล้างดีเอ็นเอบริสุทธิ์ (Elution)** เติมบัฟเฟอร์ TE หรือน้ำปลอดเชื้อเกรดโมเลกุล ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที ปั่นเหวี่ยงเพื่อชะล้างดีเอ็นเอบริสุทธิ์ นำไปวัดค่าความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ($A_{260}/A_{280} \approx 1.8$ และ $A_{260}/A_{230} > 1.7$)

C.2 โปรโตคอลการตรวจนับจุลินทรีย์ดิน (Serial Dilution & Plate Count)

1. ชั่งดิน 10 กรัม ผสมในน้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85% NaCl) ปริมาตร 90 mL เขย่าเป็นเวลา 15 นาที
2. ดูดสารแขวนลอย 1 mL ถ่ายลงในหลอดที่ 2 ที่มีน้ำปลอดเชื้อ 9 mL (เจือจาง 10^{-2}) ทำซ้ำจนถึง 10^{-6}
3. ดูดตัวอย่าง 0.1 mL จากระดับ $10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$ ลงบนจานอาหาร NA (สำหรับแบคทีเรีย) และจาก $10^{-2}, 10^{-3}$ ลงบนจานอาหาร PDA ผสมยาปฏิชีวนะ (สำหรับเชื้อรา)
4. ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมเกลี่ยให้ทั่วจานอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจนับโคโลนีช่วง 30–300 โคโลนี

บทที่ D

ดัชนีคำศัพท์จุลชีววิทยาการเกษตร

Actinomycetes แอกทิโนมัยซีท แบคทีเรียแกรมบวกที่มีการเจริญของเส้นใยคล้ายเชื้อราและสร้างสปอร์ เป็นแหล่งผลิตสารปฏิชีวนะสำคัญ

Ammonification แอมโมนิฟิเคชัน กระบวนการย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจนอินทรีย์ให้กลายเป็นก๊าซแอมโมเนียหรือไอออนแอมโมเนียม

Antagonism ปฏิปักษ์ ปรากฏการณ์ที่สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งยับยั้ง ขัดขวาง หรือทำลายการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง

Arbuscule อาร์บัสคูล โครงสร้างแตกแขนงคล้ายต้นไม้เล็กๆ ของเชื้อราไมคอร์ไรซาภายในเซลล์คอร์เทกซ์รากพืช ใช้แลกเปลี่ยนสารอาหาร

Biochar ถ่านชีวภาพ วัสดุคาร์บอนเสถียรที่ได้จากการเผาชีวมวลภายใต้สภาวะควบคุมและจำกัดออกซิเจน

Biocontrol การควบคุมโดยชีววิธี การใช้สิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ในการควบคุมและกำจัดศัตรูพืช

Biological Nitrogen Fixation (BNF)
การ ตรึง ไนโตรเจน ทาง ชีวภาพ การ เปลี่ยน ก๊าซ ไนโตรเจนใน บรรยากาศ เป็น แอมโมเนีย โดย เอนไซม์ ไน โต ร จี เนส ของจุลินทรีย์

Composting การทำปุ๋ยหมัก กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจนจนได้สารปรับปรุงดินที่คงตัว

Denitrification	ดี ไน ตริ ฟิเค ชัน กระบวนการ รีดักชัน ของ ไน เต รต ให้ กลายเป็นก๊าซไนตรัสออกไซด์หรือก๊าซไนโตรเจนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน
Endophyte	เอนโดไฟต์ จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือโรคต่อพืชอาศัย
Glomalin	กลูมาลิน ไกลโคโปรตีนไม่ละลายน้ำที่สร้างโดยเชื้อราไมคอร์ไรซา ทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวอนุภาคดินเป็นเม็ดดิน
Metagenomics	เมตาเจโนมิกส์ การศึกษาลำดับเบสสารพันธุกรรมทั้งหมดของชุมชนจุลินทรีย์ที่สกัดได้โดยตรงจากตัวอย่างธรรมชาติ
Mycoparasitism	การเป็นปรสิตบนเส้นใยรา ปรากฏการณ์ที่เชื้อราชนิดหนึ่งเข้าเกาะ พันรัด และย่อยสลายเส้นใยของเชื้อราอีกชนิดหนึ่ง
Necromass	ซากจุลินทรีย์ ซากเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ตายแล้วและสะสมเป็นแหล่งคาร์บอนที่เสถียรในดิน
Nitrification	ไนตริฟิเคชัน กระบวนการออกซิเดชันของแอมโมเนียมให้กลายเป็นไนไตรต์และไนเตรตโดยแบคทีเรียคีโมออโตโทรฟ
PGPR	แบคทีเรีย ส่ง เสริม การ เจริญ เติบโต ของ พืช (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)
Rhizosphere	ไรโซสเฟียร์ บริเวณดินรอบรากพืชที่ได้รับอิทธิพลโดยตรงจากสารหลั่งและกิจกรรมของราก
Siderophore	ไซเดอโรฟอร์ สารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่จุลินทรีย์หลั่งออกไปเพื่อจับและขนส่งไอออนเหล็กเข้าสู่เซลล์

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. (2565). *คู่มือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไตรโคเดอร์มาเพื่อควบคุมโรคพืชในไม้ผลเขตร้อน*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

จิรภัทร จันทมาลี. (2569). *จุลชีววิทยาการเกษตร (นิเวศวิทยาของดินและการควบคุมโดยชีววิธี)*. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.

จิรภัทร จันทมาลี, วาสนา พักดี, ฉัตรสุดา ดวงงาม, และ ศรัณยา เตชะพิบูลย์ทรัพย์. (2562). การคัดกรองแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้ในจังหวัดจันทบุรี. *รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการพะเยาวิจัย ครั้งที่ 8*, 502–515.

จิรภัทร จันทมาลี, และ วาสนา พักดี. (2560). การคัดเลือกแบคทีเรียทนร้อนที่ละลายฟอสเฟตจากพื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. *การประชุมวิชาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 8 ทรัพยากรไทย หวนดูทรัพย์สินตน*, 1–10.

จิรภัทร จันทมาลี, อรอุมา บุญไทย, ธัญญา ธัญญา, กรรณิการ์ อินทุ่ม, วิชญาพร ศรีดาพันธุ์, และ สุชัญญา บังเกิด. (2560). คุณสมบัติทางชีวภาพของดินและจำนวนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในน้ำจากสวนผลไม้พื้นที่คลองภักดีรำไพ อำเภอเมืองจังหวัดจันทบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, *45*(1), 53–67.

ดลฤดี ทองเผือก, ศิวนันท์ ภู่ตระกูล, และ จิรภัทร จันทมาลี. (2564). การใช้เทคนิค Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ตรวจหาเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ในมะม่วงน้ำดอกไม้. *วารสาร วิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม*, *6*(3), 94–105.

ดลฤดี ทองเผือก, จิรภัทร จันทมาลี, ศศิธร วชิรลุพธ์, และ ศิวนันท์ ภู่ตระกูล. (2565). การใช้เทคนิค Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ตรวจหาเชื้อราไฟทอปธอราในทุเรียน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม*, *7*(3), 1–14.

ทัศนีย์ สายทอง, และ จิรภัทร จันทมาลี. (2560). การคัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชที่มีคุณสมบัติย่อยสลายไกลโฟเสท. *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ครั้งที่ 9*, 1–8.

วาสนา พักดี, และ จิรภัทร จันทมาลี. (2568). ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีท *Streptomyces* sp. PM-R01 ที่แยกได้จากทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองในจังหวัดจันทบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, *44*(3), 27–35.

วาสนา พักดี, และ จิรภัทร จันทมาลี. (2569). การทดสอบเบื้องต้นถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเชื้อ *Streptomyces* sp. SR1301 ที่แยกได้จากดินในพื้นที่ปกปักทรัพยากร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, *54*(2), 428–441.

Atlas, R. M., & Bartha, R. (1998). *Microbial ecology: Fundamentals and applications* (4th ed.). Benjamin/Cummings.

Beijerinck, M. W. (1888). Die Bacterien der Papilionaceen-Knöllchen. *Botanische Zeitung*, *46*, 725–735.

Chanthamalee, J., Boonthai, I., Thunya, T., Intum, K., Sridapan, W., & Bungkerd, S. (2016). Physical, chemical, and biological properties of soil in Pongrad fruit orchards, Chanthaburi Province. *Rambhai Barni Research Journal*, *10*(3), 85–95.

Chanthamalee, J., & Luepromchai, E. (2012). Isolation and application of *Gordonia* sp. JC11 for removal of boat lubricants. *The Journal of General and Applied Microbiology*, *58*(1), 19–31. https://doi.org/10.2323/jgam.58.19

Chanthamalee, J., Mashimo, Y., & Luepromchai, E. (2018). Biodegradation of lubricant oil by polyurethane foam-immobilized *Gordonia* sp. JC11. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *184*(3), 850–863. https://doi.org/10.1007/s12010-017-2605-z

Chanthamalee, J., & Puckdee, W. (2023). Screening of antifungal activity of antagonistic bacteria isolated from orchard soil in Chanthaburi Province. *Proceedings of the 10th Non-See Isan National Academic Conference*, 182–192.

Chanthamalee, J., & Puckdee, W. (2024). Screening of exopolysaccharide-producing drought tolerant rhizobacteria from orchard soils in Chanthaburi Province. *Kalasin University Journal of Science, Technology and Innovation*, *7*(1), 25–35.

Chanthamalee, J., & Puckdee, W. (2025). Plant growth-promoting properties of endophytic bacteria *Bacillus* sp. DMR-603 isolated from economic durian cultivars in Chanthaburi Province. *Proceedings of the 15th National Academic Conference 2024*, 1–10.

Chanthamalee, J., Puckdee, W., & Thassana, C. (2025). Characterization of multi-stress tolerant PGPR from orchard soils in Chanthaburi Province, Thailand. *Proceedings of the 37th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology (TSB 2025)*, 354–361.

Chanthamalee, J., & Waratchareeyakul, W. (2020). Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using selected bacterial strains of PGPR. *The 4th National and International Research Conference 2021*, 1–10.

Chanthamalee, J., Wongchitphimon, T., & Luepromchai, E. (2013). Treatment of oily bilge water from small fishing vessels by PUF-immobilized *Gordonia* sp. JC11. *Water, Air, & Soil Pollution*, *224*(7), 1601. https://doi.org/10.1007/s11270-013-1601-2

Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research*, *19*, 29–37. https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004

Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, *169*(1), 30–39. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, *2*(1), 43–56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Hiltner, L. (1904). Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft*, *98*, 59–78.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541–556. https:// doi.org/ 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

Paul, E. A. (2014). *Soil microbiology, ecology and biochemistry* (4th ed.). Academic Press.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.

van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *11*(3), 296–310. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x

Waksman, S. A. (1952). *Soil microbiology*. John Wiley & Sons.

Winogradsky, S. (1890). Recherches sur les organismes de la nitrification. *Annales de l'Institut Pasteur*, *4*, 213–231.

ดัชนีสืบค้นคำสำคัญ

Convolutional Neural Network (CNN), 68

DNA Language Model, 69

Explainable AI (XAI), 70

Federated Learning, 71

Large Language Model (LLM), 72

Protein Language Model, 69

Reinforcement Learning, 70

Transformer Model, 69

กลุ่มจุลินทรีย์ในดิน, 8
กลไกของพีจีพีอาร์ (PGPR Mechanisms), 24
กอร์ดอเนีย (Gordonia sp. JC11), 47
การกักเก็บคาร์บอนในดิน (Soil Carbon Sequestration), 57
การควบคุมโดยชีววิธี (Biological Control), 31
การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า (Root Rot Biocontrol), 32
การชักนำความต้านทานโรค (ISR), 32
การตรวจวินิจฉัยแอนแทรคโนสมะม่วง (Mango Anthracnose Diagnosis), 40
การตรวจวินิจฉัยโรครากเน่าทุเรียน (Durian Phytophthora Diagnosis), 40
การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (BNF), 16
การทำปุ๋ยหมัก (Composting Microbiology), 45
การบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation), 47
การย่อยสลายไกลโฟเสท (Glyphosate Biodegradation), 47
การวินิจฉัยโรคพืชด้วย AI, 68
การวิเคราะห์ภาพจุลทรรศน์ด้วย AI, 68
การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis), 31
การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change), 57
การเป็นปรสิตบนเส้นใยรา (Mycoparasitism), 31
การเพาะเห็ด (Mushroom Cultivation), 53
ก๊าซชีวภาพ (Biogas Production), 46
จุลชีววิทยาการเกษตร (Agricultural Microbiology), 3
จุลินทรีย์ควบคุมแมลง (Entomopathogenic Microorganisms), 33
จุลินทรีย์ดินสวนผลไม้จันทบุรี, 11
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic Microorganisms), 31

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (Phosphate-Solubilizing Microorganisms), 18
จุลินทรีย์เอนโดไฟต์ (Endophytic Microorganisms), 25
ดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification), 17
ถ่านชีวภาพ (Biochar-Microbe Interactions), 58
ประวัติศาสตร์จุลชีววิทยา, 3
ปัจจัยสิ่งแวดล้อมในดิน, 10
ปัญญาประดิษฐ์ (Artificial Intelligence), 67
ปัญญาประดิษฐ์ในการเกษตร (AI in Agriculture), 63
พอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (Exopolysaccharides), 25
พีจีพีอาร์ทนทานหลายสภาวะ (Multi-stress Tolerant PGPR), 25
พืชอาหารสัตว์หมัก (Silage Fermentation), 52
ยุคโอมิกส์ (Omics Era), 62
ระบบนิเวศดิน (Soil Ecosystem), 8
วัฏจักรชีวธรณีเคมี (Biogeochemical Cycles), 16
วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen Cycle), 16
สามเหลี่ยมการเกิดโรคพืช (Plant Disease Triangle), 38
อนาคต AI ในจุลชีววิทยาเกษตร, 72
อาร์เคีย (Archaea), 9
เชื้อราในดิน (Soil Fungi), 9
เทคนิคแลมป์ (LAMP Assay), 40
เมตาเจโนมิกส์ (Metagenomics), 62
เม็ดดิน (Soil Aggregates), 10
แบคทีเรียพีจีพีอาร์ (PGPR), 23
แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน, 19
แบคทีเรียในดิน (Soil Bacteria), 8
แอกติโนมัยซีทปฏิปักษ์ (Antagonistic Actinomycetes), 32
แอกทิโนมัยซีท (Actinomycetes), 9
โพรไบโอติกในสัตว์ (Probiotics), 52
โมเดลเศรษฐกิจบีซีจี (BCG Model), 4
โรคพืชจากเชื้อรา (Fungal Plant Diseases), 39
โรคพืชจากแบคทีเรีย (Bacterial Plant Diseases), 39
โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose), 39
ไนตริฟิเคชัน (Nitrification), 17
ไฟทอปธอรา (Phytophthora palmivora), 39
ไมคอร์ไรซา (Arbuscular Mycorrhizal Fungi), 27
ไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere), 23

ประวัติผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรภัทร จันทมาลี

(Asst. Prof. Dr. Jirapat Janthamalee)

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
สถานที่ทำงาน เลขที่ 41 หมู่ 5 ตำบลท่าช้าง อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี 22000
อีเมล jirapat.c@rbru.ac.th

ประวัติการศึกษา

- **Ph.D. (Microbiology)** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- **วท.ม. (จุล ชีววิทยา อุตสาหกรรม)** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- **วท.บ. (จุลชีววิทยา)** เกียรตินิยมอันดับ 2 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาระงานสอนประจำ

- จุล ชีววิทยา พื้น ฐาน และ สำหรับการเกษตร (General & Agri Micro)
- จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (Environmental Microbiology)
- จุล ชีววิทยา อุตสาหกรรม (Industrial Microbiology)
- เทคโนโลยีการหมักทางชีวภาพ (Bioprocess Technology)

ความเชี่ยวชาญและงานวิจัยที่สนใจ

- การบำบัดทางชีวภาพและกำจัดคราบน้ำมัน (Bioremediation)
- การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันด้วยจุลินทรีย์และการลดความเข้มสี
- การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของไรโซแบคทีเรียทนแล้งในดิน
- การใช้เทคนิคอณูชีววิทยา (LAMP) ตรวจหาเชื้อราก่อโรคในพืช
- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)