การคัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์ Bacillus ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora parasitica*

Selection and Efficacy Test of High Potential Bacillus for Controlling *Phytophthora parasitica*

บุษราคัม อุดมศักดิ์ สุรีย์พร บัวอาจ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ปี พ.ศ. 2554 ได้ทำการทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย Bacillus ที่แยกได้จากดินปลูก วัสดุปลูก ปุ๋ยคอก และเศษซากพืชจำนวน 85 ไอโซเลท ในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว โดยวิธี dual plate technique บนอาหาร PDA พบว่า มี Bacillus 15 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* ได้ โดยพบว่า 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ GM011 17G5 20W14 19W13 22W11 และ 17G15 จากนั้นนำทั้ง 6 ไอโซเลท ไปการทดสอบการควบคุมโรคเน่าดำบนต้นหน้าวัวในโรงเรือน โดยการพ่นและบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 24 ช.ม.ก่อนปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf พบว่า ไอโซเลท 17G15 GM011 และ 22W11 มีศักยภาพในการลดการเกิดโรคเน่าดำของหน้าวัวในระดับโรงเรือน โดยสามารถลดอาการแผลเน่าบนใบหน้าวัวได้ประมาณ 15 % ในปี พ.ศ. 2555 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพ Bacillus รวม 110 ไอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มี Bacillus จำนวน 73 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร PDA ได้ จากนั้นได้ทำการคัดเลือก Bacillus ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ 2G23 KA2 3G14 19W13 2G24 และ 8W14 นำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ตระกูลแวนด้า วิธีเดียวกับการทดสอบในหน้าวัว ผลการทดลอง พบว่า ที่ 3 วันหลังการทดสอบ ไอโซเลท 19W123 และ 8W14 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ในระดับโรงเรือน ได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus โดยมีค่าฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเน่าดำเท่ากับ 1.47 และ1.65 ตร.ซม. ตามลำดับ โดยที่กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการพ่น Bacillus มีค่าฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเน่าดำเท่ากับ 1.75 ตร.ซม. แต่ทั้งนี้ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus ปี 2556 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus 120 ไอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรด ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มี Bacillus จำนวน 77 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร PDA ได้ โดยไอโซเลท BK5 1G8 2G23 20W22 และ 20W32 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 0.91 0.61 0.48 0.46 และ 0.43 ซม. ตามลำดับ จากนั้นนำ Bacillus 5 ไอโซเลท ไปทดสอบการควบคุมโรคเน่าดำบนต้นสับประรดในโรงเรือน เช่นเดียวกับการทดสอบในหน้าวัว พบว่า Bacillus ทุกไอโซเลท

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-03-01-04-54

มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไม่แตกต่างกัน และเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสาร metalaxyl 25% WP โดยมีค่าเฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเท่ากับ 0.534 – 0.586 ตร. ซม โดย ไอโซเลท 20W32 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยมีค่าเฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเท่ากับ 0.534 ตร.ซม. ทั้งนี้ ทุกไอโซเลทสามารถควบคุมโรคเน่าดำของสับประรดได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 165 ไอโซเลท ในการควบคุมโรคเน่าสะระแหน่ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามี *Bacillus* sp. 35 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* โดยไอโซเลท 20 W10 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*โดยมีความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 0.77 ซม.

คำนำ

Phytophthora parasitica Dastur เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญ มีพืชอาศัยมากกว่า 200 ชนิด ในประเทศไทยมีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจได้ถึง 30 ชนิด เช่น โรคยอดเน่า (heart rot) รากเน่า (root rot) สับประรด โรครากเน่า (root rot) ใบไหม้ (leaf blight) ของส้มจุก ส้มจีน โรคใบร่วงยางพารา โรคโคนเน่ามะนาว โรคใบไหม้สะระแหน่ โรคเน่าดำกล้วยไม้ (พัฒนา และคณะ, 2537) และโรคเน่าดำ หรือใบแห้งของหน้าวัว การเข้าทำลายรวดเร็วและรุนแรง โดยลักษณะอาการที่พบเสมอ ได้แก่ อาการรากและโคนเน่า โดยเชื้อราชนิดนี้สามารถอยู่รอดนอกฤดูในดินและในเศษซากพืชในลักษณะสปอร์ผนังหนาเป็นจำนวนมาก อาจอยู่ในดินได้นาน 4-6 ปี (อมรรัตน์,2552) การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคนี้จึงมักจะได้ผลในระยะแรก เนื่องจากเชื้อสามารถปรับตัวและเกิดการดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการศึกษาการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อราชนิดนี้จึงน่าจะเป็นทางเลือกใหม่ที่สามารถมาควบคุมโรคนี้ได้อย่างยั่งยืนได้ในอนาคต ซึ่งในปัจจุบันก็เป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรคพืช เนื่องจากมีการนำไปใช้อย่างได้ผลดีและสามารถพัฒนาเป็นการค้าได้หลายชนิด เช่น ในประเทศออสเตรเลียได้พัฒนาใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในทางการค้าสำเร็จเป็นครั้งแรก โดยใช้เชื้อ *Agrobacterium radiobecter* K84 ที่เป็นพวกซาโปรไฟท์ไปควบคุมโรคปุ่มปมของพืชที่เกิดจากเชื้อ *A. tumefaciens* แบคทีเรียแบคทีเรียกลุ่ม pseudomonads ชนิดสร้างสารเรืองแสง มีความสามารถในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียที่ติดไปกับดิน ซึ่งเป็นเชื้อโรคพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชอย่างมาก หรือแบคทีเรีย Bacillus หลายชนิดมีรายงานว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคได้เช่นเดียวกับ pseudomonads ชนิดสร้างสารเรืองแสงในพืชหลายชนิด ทั้งสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดลอง (นิพนธ์, 2538) *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อเทคโนโลยีชีวภาพค่อนข้างมาก แบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไป ในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ ฯลฯ แบคทีเรียนี้สามารถหลั่งสารประกอบต่างๆ ที่สร้างขึ้นออกสู่ภายนอกเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แบคทีเรียนี้เพียงไม่กี่ Species ที่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคกับคน ส่วนใหญ่มีความปลอดภัย แบคทีเรียนี้เป็น aerobic bacteria ที่สร้างสปอร์ที่เรียกว่า endospore ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด 1 spore ใน 1 เซลล์เท่านั้น พบมีตามดินในสภาพในสภาพแวดล้อมต่างๆ แบคทีเรียจำพวกนี้พบได้ทั่วไปในดิน เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลาย ของซากพืชและซากอื่นๆ แบคทีเรียจำพวกนี้สร้างและหลั่งเอนไซม์จำพวก carbohydrase และ protease ออกนอกเซลล์ได้หลายชนิด

พากเพียร และคณะ (2544) ได้ทดสอบเชื้อ *Bacillus Subtilis* ซึ่งได้รับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรเหลว (TRF สูตร A และ TRF สูตร B) ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว (*Rhizoctonia solani* Khun.) ในสภาพแปลงนาทดลอง ใช้ข้าวพันธุ์ กข 23 พบว่า การใช้ TRF สูตร A, TRF สูตร B, Larminar WP, Agroguard Liq. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 50.48, 52.53, 54.59 และ 55.18 ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธี จะมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธี เปรียบเทียบอย่างนัยสำคัญทางสถิติซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคสูงถึง 65.46 % ณัฏฐิมา และคณะ (2547) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% แต่การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการทดลองนี้เตรียมในรูปเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์และราดลงบนดินซึ่งเป็นการไม่สะดวกต่อเกษตรกรที่จะนำไปใช้ในสภาพแปลงและทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่คงที่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลแบคทีเรียตายลง วงศ์ และคณะ (2548) ศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคสามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้

บุษราคัม และ ณัฏฐิมา (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ จำนวน 80 ไอโซเลท เพื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ และ *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา การทดสอบในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี dual plate technique ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* spp. 17 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *F. oxysporum* และ 28 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *F. solani* การทดสอบในเรือนทดลอง พบว่า *Bacillus* spp. ไอโซเลท 2G4, 22W10, 20W12,17G18 และ 20W4 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ 100% และไอโซเลท 17G18 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวแตงกวา 100% โดยไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากทั้งเชื้อรา *F.oxysporum* และ *F. solani*

ณัฏฐิมา และคณะ (2551) ศึกษาการเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และบนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผง talcum 1:4 (V:W) ได้ปริมาณแบคทีเรียในผงเชื้อ คือ $1.1x10^{10}$ และ $0.7x\ 10^{10}$ CFU/กรัม ตามลำดับ นำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C มีชีวิตอยู่รอดได้ 12 เดือน และ15 เดือน ตามลำดับ เมื่อนำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงพบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60 % ในเรือนทดลองและ 30-37 % ในแปลงทดลองปีที่ 1 และ 67.5-72.5% ในปีที่สอง

นิราวดี และคณะ(ไม่ระบุปี พ.ศ.) ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นของการควบคุมราก่อโรคพืช *Phytophthora* spp. โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่า *Bacillus cereus* สายพันธุ์ MM0508 ยับยั้งการเจริญของรา *P. palmivora* และ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ MM0573 ยับยั้งการเจริญของรา *P. parasitica* เมื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยราที่เลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยมีลักษณะบวม ขรุขระ และเส้นใยไม่ยืดยาวออกไป ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากสารยับยั้งการเจริญของราที่แบคทีเรียปฏิปักษ์สร้างขึ้น

Cavaglieri *et al.*, (2005) ศึกษาผลของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการปกป้องรากพืชจากเชื้อราสาเหตุโรคที่ราก เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สร้างเอนโดสปอร์ (endospores) และมีกลไกในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพืชได้หลายชนิด ในการทดลองนี้พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* CE1 เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *F. verticillioides* และเมื่อทดสอบในระดับโรงเรือน แบคทีเรีย *B. subtilis* CE1 ที่ ความหนาแน่น 10^8 CFU/มิลลิลิตร ยังสามารถลดหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. verticillioides* ทั้งบริเวณภายในและภายนอกราก และแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* CE1 มีศักยภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของ *F. verticillioides* ในรากของข้าวโพด

Czaczyk *et al.*, (2002) ศึกษา กลไกการยับยั้งเชื้อราของแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* ที่แยกได้จากปุ๋ยหมัก ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช 7 ชนิด ได้แก่ *Bipolaris sorokiniana, Trichothecium roseum, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Fusatium oxysporum, F. Solani* และ *F. Culmorum* พร้อมทั้งตรวจสอบการสร้างประกอบ Ergosterol และนับจำนวนโคโลนีเดี่ยวของเชื้อรา (colony forming units (CFU)) เป็นปัจจัยเสริมเพื่อตรวจดูการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า การเพิ่มแบคทีเรีย *B. coagulans* ลงเลี้ยงในอาหารที่เลี้ยงเชื้อรา ทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สร้างสารประกอบ Ergosterol ในเส้นใยเชื้อรา และเกิดการยับยั้งอย่างมากในเชื้อราทุกชนิดที่ทดสอบ เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อราพร้อมกับแบคทีเรีย *B. coagulans* อย่างไรก็ตามระดับการลดลงของสารประกอบ Ergosterol ไม่มีความสัมพันธ์เสมอไปกับจำนวน โคโลนีเดี่ยวของเชื้อราที่ลดลง

El-hamshary *al.*, (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BsGh-18 และ *B. cereus* สายพันธุ์ Bc Nv-29 ในการควบคุมเชื้อราโรคพืชในดิน *Fusarium solani* พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา F. solani บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดี Aysan *et al.*, (2003) รายงานการควบคุมโรคเน่าเละจากเชื้อ *E. chrysanehemi* ของมะเขือเทศ โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกจากบริเวณผิวรากของมะเขือเทศ ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้สูงถึง 74%

ในประเทศไทย ได้มีการศึกษาวิจัยการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชและสามารถพัฒนาจนได้เป็นสารชีวินทรีย์หลายชนิด ที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบได้กับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ทำการผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH4 ใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา และแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ *Alternaria* spp. *Phytophthora palmivora F usarium* spp *Rhizoctonia* sp. *Cercospora* spp. *Acrocylindrium oryzae Erwinia* spp. *Pyricularia oryzae Colletotrichum* spp.*Ralstonia solanacearum และ Xanthomonas campestris* (www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/.../plant_00.html -) นอกจากนี้มีชีวินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ใช้ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวหรือโรคที่เกิดจากเชื้อราในดินของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด

โรคเน่าดำหรือใบแห้ง (black rot หรือ leaft blight) หน้าวัว สาเหตุจากเชื้อรา *P. parasitica* เชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งทางใบ และโคนต้น อาการเริ่มแรกที่ใบเกิดเป็นแผลฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลขยายเป็นวงกลม ถ้าสภาพชื้นสูง แผลจะลุกลามขยายใหญ่ ถ้าเชื้อเข้าทำลายที่โคนต้นและราก หน้าวัวจะแสดงอาการโคนต้นช้ำเป็นสีน้ำตาลรากเน่าดำ เมื่อดึงใบเบา ๆ ก้านใบจะหลุดออกจากต้นได้ง่าย (ปิยรัตน์ และสุรภี, 2548)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้จากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้ในอนาคต เพื่อเกษตรจะได้นำไปใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 120 ไอโซเลท
3. เชื้อรา *P. parasitica*
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ และตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
5. พันธุ์หน้าวัว, พันธุ์กล้วยไม้ และ พันธุ์สับประรด

วิธีการ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ปี พ.ศ. 2554 สิ้นสุดปี พ.ศ. 2556

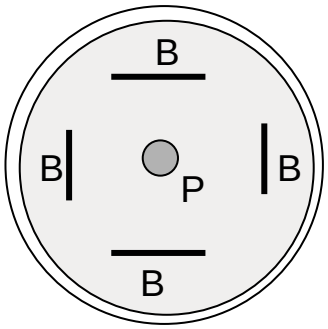
สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>ปฏิบัติการทดลอง</u> ดังนี้

1. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว/กล้วยไม้/สับประรด ในห้องปฏิบัติการ</u>

นำแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้และที่เก็บไว้ที่หน่วยรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ทางการเกษตร กลุ่มวิจัยโรคพืช มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคพืชที่สำคัญที่นำมาทดสอบ ได้แก่ โรคเน่าดำในหน้าวัว กล้วยไม้ และสับประรด โดยวิธี dual plate method โดยปฏิบัติดังนี้

- เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. แต่ละไอโซเลทลงบนอาหาร PSA จนกระทั่งเส้นใยหรือโคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ
- ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราทดสอบบริเวณขอบโคโลนี วางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ
- ใช้ Loop ขนาดมาตรฐานแตะเบาๆที่ *Bacillus* sp. ทดสอบ ที่เลี้ยงไว้ นำมาขีดเป็นเส้นตรง ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ขนานกับโคโลนีของเชื้อราทดสอบ 4 ด้าน ระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 1 เซนติเมตร (รูปที่ 1)
- ตรวจผลโดยวัดขนาดความกว้างของ Inhibition zone และ ขนาดของโคโลนีของเส้นใยของเชื้อราทดสอบที่ถูกยับยั้ง



ภาพที่ 1 แสดงการทดสอบโดยวิธี dual plate technique , P คือโคโลนีเชื้อรา ทดสอบ, B คือ *Bacillus* sp. ทดสอบ

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำหน้าวัว/กล้วยไม้/สับประรด ในสภาพเรือนทดลอง

โดยวิธี detached leaf

- การวางแผนการทดลอง

2.1 ปี 2554 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย Bacillus ไอโซเลท GM011 17G5 20W14 19W13 22W11 และ 17G15 ในการควบคุมโรคเน่าดำในหน้าวัว

วางแผนแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่1 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท GM011

กรรมวิธีที่2 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 17G5

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 20W14

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 19W13

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 22W11

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 17G15

กรรมวิธีที่ 7 C- (วางชิ้นอาหารวุ้น PSA บนใบหน้าวัว ที่พ่นด้วย Bacillus)

กรรมวิธีที่ 8 C+ (วางชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* บนใบพืชที่ไม่มีการพ่น Bacillus)

2.2 ปี 2555 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย Bacillus ไอโซเลท 2G24 19W13 8W14 KA2 2G23 และ 3G14 ในการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้

วางแผนแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 2G24

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 19W13

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 8W14

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท KA2

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 2G23

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 3G14

กรรมวิธีที่ 7 C- (วางชิ้นอาหารวุ้น PSA บนใบกล้วยไม้ ที่พ่นด้วย Bacillus)

กรรมวิธีที่ 8 C+ (วางชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* บนใบพืชที่ไม่มีการพ่น Bacillus)

2.3 ปี 2556 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย Bacillus ไอโซเลทในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรด

วางแผนแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่1 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 1G8

กรรมวิธีที่2 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 2G23

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 20W22

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท 20W32

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย Cell suspension ของ Bacillus ไอโซเลท BK5

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย metalaxyl 25% WP อัตรา 30 กรัม/ต่อ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 C- (วางชิ้นอาหารวุ้น PSA บนใบสับประรด ที่พ่นด้วย Bacillus)

กรรมวิธีที่ 8 C+ (วางชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* บนใบพืชที่ไม่มีการพ่น Bacillus)

- การดำเนินการ

1. การเตรียมเชื้อรา

1.1 เลี้ยงเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร PDA ให้มีอายุ 5 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2 ใช้ cock borrer ขนาดประมาณ 0.5 ซ.ม เจาะเส้นใยเชื้อบนอาหารวุ้น เพื่อเตรียมไว้วางบนใบพืชทดสอบ

2. การเตรียมแบคทีเรีย Bacillus

2.1 เลี้ยงแบคทีเรีย bacillus ที่จะทดสอบ บนอาหาร PSA ให้มีอายุ 48 ช.ม.

2.2 ทำเป็น cell suspension โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 30 ซี.ซี ต่อจานอาหาร ขุดเอาส่วนของเซลล์แบคทีเรียที่เจริญบริเวณผิวหน้าอาหาร

2.3 คนให้เข้ากัน ปรับความเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/ม.ล.

3. การทดสอบ

3.1 พ่น cell suspension ของ bacillus ทั้ง 6 ไอโซเลท ลงต้นพืชทดสอบให้ชุ่มทั้งใบและต้น ทิ้งไว้ 24 ช.ม.

3.2 นำชิ้นวุ้นเส้นใยที่เจาะเตรียมไว้ (ข้อ 1.2) วางบนใบพืชทดสอบ ที่ทำแผลไว้ โดยคว่ำส่วนของเส้นใยลง 4 ใบต่อต้น 30 ต้นต่อไอโซเลท (ภาพที่ 1และ2)

3.3 มีกรรมวิธีเปรียบเทียบ 2 กรรมวิธี คือ C+ (วางชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* บนใบพืชที่ไม่มีการพ่น Bacillus) และ C- (วางชิ้นอาหารวุ้น PSA บนใบหน้าวัว/กล้วยไม้ ที่พ่นด้วย Bacillus)

3.4 ตรวจผลโดยวัดพื้นที่ของแผลพืชทดสอบ เปรียบเทียบกับชุด control ที่ 3 และ/หรือ 5, 7 วัน หรือเมื่ออาการของโรคปรากฏชัดเจน

(ก) (ข)

ภาพที่ 2 แสดงการปลูกเชื้อบนใบหน้าวัวโดยวิธี detached leaf

(ก) การวางเชื้อ *Phytophthora parasitica*

(ข) ลักษณะอาการที่ปรากฏ หลังปลูกเชื้อ 3 วัน

ภาพที่ 3 แสดงการปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้โดยวิธี detached leaf

(ก) การทำแผลบนกล้วยไม้ก่อนปลูกเชื้อ

(ข) การวางเชื้อ *Phytophthora parasitica*

(ค) ลักษณะอาการที่ปรากฏ หลังปลูกเชื้อ 3 วัน

ภาพที่ 4 แสดงการปลูกเชื้อบนใบสับประรดโดยวิธี detached leaf

(ก) การทำแผลบนในสับประรดก่อนปลูกเชื้อ

(ข) การวางเชื้อ *Phytophthora parasitica*

(ง) ลักษณะอาการที่ปรากฏ หลังปลูกเชื้อ 7 วัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว ในห้องปฏิบัติการ (ปี พ.ศ. 2554)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว ของแบคทีเรีย Bacillus 85 ไอโซเลทบนอาหาร PDA พบว่า มี Bacillus 15 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* โดยมีค่าเฉลี่ยของ ความกว้างของ Inhibition zone อยู่ระหว่าง 0.040 – 1.355 ซ.ม. โดยพบว่า 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ GM011 17G5 20W14 19W13 22W11 และ 17G15 โดยมีค่าเฉลี่ยของ ความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 1.355 1.205 1.100 1.080 0.870 และ 0.460 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำหน้าวัว ในสภาพเรือนทดลอง (ปี พ.ศ. 2554)

ผลการทดสอบการควบคุมโรคเน่าดำหน้าวัว ในโรงเรือน ของ Bacillus 6 ไอโซเลท ได้แก่ GM011 17G5 20W14 19W13 22W11 และ 17G15 พบว่า หลังการทดสอบ 3 5 และ 7 วัน มี Bacillus 3 ไอโซเลท ได้แก่ 17G15 22W11 และ GM011 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำได้ดีกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ (C+) โดยที่ 3 วันหลังการทดสอบทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถลดอาการแผลเน่าบนใบหน้าวัวได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย Bacillus (C+) โดยมีพื้นที่แผลเท่ากับ 0.883 0.916 0.937 ตร.ซม.ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธี C+ มีพื้นที่แผลบนใบหน้าวัวเท่ากับ 1.047 ตร.ซม. แต่ทั้งนี้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ ในห้องปฏิบัติการ (ปี พ.ศ. 2555)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ 110 ไอโซเลท บนอาหาร PDA พบว่า มี Bacillus 73 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* โดยมีค่าเฉลี่ยของ ความกว้างของ Inhibition zone อยู่ระหว่าง 0.020 – 1.080 ซ.ม. โดยพบว่า 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 2G24 19W13 8W14 KA2 3G14 และ 2G23 โดยมีค่าเฉลี่ยของ ความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 1.080 1.060 1.010 0.790 0.770 และ 0.770 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ ในสภาพเรือนทดลอง (ปี พ.ศ. 2555)

ผลการทดสอบการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ ในโรงเรือน ของ Bacillus 6 ไอโซเลท ได้แก่ 2G24 19W13 8W14 KA2 3G14 และ 2G23 หลังการทดสอบ 3 และ 5 วัน พบว่า ที่ 3 วันหลังการทดสอบ Bacillus ไอโซเลท 19W123 และ 8W14 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus แต่ทั้งนี้ ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus (ตารางที่ 4)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรด ในห้องปฏิบัติการ (ปี พ.ศ. 2556)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus 120 ไอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรด ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มี Bacillus จำนวน 77 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร PDA ได้ โดยไอโซเลท BK5 1G8 2G23

20W22 และ 20W32 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 0.91 0.61 0.48 0.46 และ 0.43 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำสับประรด ในสภาพเรือนทดลอง (ปี พ.ศ. 2556)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ Bacillus 5 ไอโซเลท ในการควบคุมโรคเน่าดำบนต้นสับประรด ในโรงเรือนทดสอบ พบว่า Bacillus ทุกไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไม่แตกต่างกัน และเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmetalaxyl 25% WP โดยมีค่าเฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเท่ากับ 0.534 – 0.586 ตร. ซม โดย ไอโซเลท 20W32 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยมีค่าเฉลี่ยของพื้นที่แผลโรคเท่ากับ 0.534 ตร.ซม. ทั้งนี้ ทุกไอโซเลท
สามารถควบคุมโรคเน่าดำของสับประรดได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

7. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่า สะระแหน่ ในสภาพเรือนทดลอง (ปี พ.ศ. 2556

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าสะระแหน่ 165 ไอโซเลท บนอาหาร PDA พบว่า มี Bacillus 35 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* โดยพบว่า 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 22W10 1G8 20W34 22W11 และ 2G4 โดยมีค่าเฉลี่ยของ ความกว้างของ Inhibition zone 0.77 0.65 0.63 0.58 และ 0.56 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย Bacillus 10 ไอโซเลท (จาก 15 ไอโซเลท) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคเน่าหน้าวัว ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
7W14	0.130
22W12	0.175
20W33	0.260
22W10	0.425
17G15	0.460
22W11	0.870
19W13	1.080
20W14	1.100
17G5	1.205
GM011	1.355

ตารางที่ 2 พื้นที่แผลโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* บนหน้าวัวที่ถูกยับยั้งโดย Bacillus 6 ไอโซเลท ที่ 3 5 และ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ

ไอโซเลท/กรรมวิธี	พื้นที่แผล (ตารางเซนติเมตร)		
	3 DAI[1/]	5 DAI[1/]	7 DAI[1/]
C-	0.123 b	0.130	0.199b
17G15	0.883a	1.085	1.337a
22W11	0.916a	1.111	1.380a
GM011	0.937a	1.203	1.230a
C+	1.047a	1.205	1.403a
17G5	1.129a	1.376	1.719a
19W13	1.206a	1.412	1.674a
20W14	1.405a	1.674	1.930a
CV (%)	42.18	49.55	46.13
F (treatments)	3.529*	2.249 ns	2.791*

[1/] DAI : Day after Inoculated : 3 5 และ7 วันหลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 3 แบคทีเรีย Bacillus 10 ไอโซเลท (จาก 73 ไอโซเลท) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคเน่ากล้วยไม้ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
22W11	0.710
2G7	0.720
29W3	0.730
3G14	0.770
2G23	0.770
20W33	0.770
KA2	0.790
8W14	1.010
19W13	1.060
2G24	1.080

ตารางที่ 4 พื้นที่แผลโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* บนกล้วยไม้ที่ถูกยับยั้งโดย Bacillus 6 ไอโซเลท ที่ 3 และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อ

ไอโซเลท/กรรมวิธี	พื้นที่แผล (ตารางเซนติเมตร)	
	3 DAI[1/]	5 DAI[1/]
2G23	1.93a	8.577a
KA2	2.64a	5.17ab
3G14	2.04a	4.38abc
19W13	1.47a	3.56bc
2G24	2.48a	4.48abc
8W14	1.65a	3.15bc
C+	1.75a	3.88bc
C-	0.00b	0.00c
CV	**48.71**	**78.19**
F (treatments)	**3.73 ****	**2.67***

[1/] DAI : Day after Inoculated : 3 และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 5 แบคทีเรีย Bacillus 10 ไอโซเลท (จาก 77 ไอโซเลท) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรดในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
15W10	0.340
3G10	0.360
29W2	0.380
2G9	0.410
20W27	0.420
20W32	0.430
20W22	0.456
2G23	0.485
1G8	0.615
BK5	0.910

ตารางที่ 6 พื้นที่แผลโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* บนสับประรดที่ถูกยับยั้งโดย Bacillus 5 ไอโซเลท ที่ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ

ไอโซเลท/กรรมวิธี	พื้นที่แผล (ตารางเซนติเมตร)
	7 DAI[1/]
C-	0.526 b
20W32	0.534 b
Metalaxyl 25% WP	0.538 b
1G8	0.570 b
2G23	0.580 b
BK5	0.582 b
20W22	0.586 b
C+	0.894 a
CV	7.69
F (treatments)	34.04 **

[1/] DAI : Day after Inoculated : 7 วันหลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 7 แบคทีเรีย Bacillus 10 ไอโซเลท (จาก 165 ไอโซเลท) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคเน่าสะระแหน่ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
22W10	0.77
1G8	0.65
20W34	0.63
22W11	0.58
2G4	0.56
2G9	0.52
2G24	0.49
20W32	0.41
22W2	0.41
2G23	0.35

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำหน้าวัวจำนวน 85 ไอโซเลท พบว่า มี 15 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำของหน้าวัวบนอาหาร PDA และ มี 3 ไอโซเลท ได้แก่ 17G15 GM011 และ 22W11 ที่มีศักยภาพในการลดการเกิดโรคเน่าดำของหน้าวัวในระดับโรงเรือน โดยสามารถลดอาการแผลเน่าบนใบหน้าวัวได้ประมาณ 15 % เมื่อเปรียบเทียบกับใบหน้าวัวที่ไม่มีการพ่นด้วย Bacillus เพื่อป้องกันการเกิดโรค ในการทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ จำนวน 110 ไอโซเลท พบว่า มี Bacillus 73 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร PDA และไอโซเลท 19W123 และ 8W14 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ในระดับโรงเรือน ได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus แต่ทั้งนี้ ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus การทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมโรคเน่าดำสับประรด จำนวน 120 ไอโซเลท พบว่า มี Bacillus 77 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำสับประรด การทดสอบประสิทธิภาพของ Bacillus 5 ไอโซเลท ในการควบคุมโรคเน่าดำบนต้นสับประรด ในโรงเรือนทดสอบ พบว่า Bacillus ทุกไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไม่แตกต่างกัน และเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmetalaxyl 25% WP โดย ไอโซเลท 20W32 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุโรคเน่าดำของสับประรด และดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น Bacillus แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบศักยภาพของ Bacillus ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าสะระแหน่ พบว่าไอโซเลท 20W10 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica*

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล,วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ Bacillus spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547 . กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 115-126.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์ 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้แบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ. หน้า 118-129. *ใน* เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัยและกรมวิชาการเกษตร

นิราวดี ศรีสุวรรณ, เอกชัย ปฐมสุริยะพร และ เอกพันธ์ บางยี่ขัน (ไม่ระบุปี พ.ศ.). คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สืบค้นจาก http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_b/paper/stt32 _B2_B0104.pdf) เมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2552

นิรนาม (ไม่ระบุปี พ.ศ.) สืบค้นจาก www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/.../plant_00.html -) เมื่อ 25 สิงหาคม 2552

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า 210-211.*ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ (บทคัดย่อ) ครั้งที่ 8, 20-22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน องเมือง จ. พิษณุโลก

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 896-913. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และสุรภี กีรติยะอังกูร. 2548. หน้าวัว. หน้า 62 – 73. *ใน* เอกสารวิชาการโรคไม้ดอก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

พากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์, วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. วารสารวิชาการเกษตร.ม.ค.- เม.ย. 2544, 19(1) หน้า 4-12.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537.ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, 285 หน้า

วงศ์ บุญสืบสกุล, วิวัฒน์ ภานุอำไพ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และปิยรัตน์ ธรรม-กิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2552. รา Phytophthora สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . 74 หน้า

Cavaglieri, L., J. Orlando, M.I. Rodríguez, S. Chulze and M. Etcheverry. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. Research in Microbiology 156 (5-6): 748-754.

Czaczyk, K., K. Trojanowska, and B. Stachowiak. 2002. Inhibition of Ergosterol Biosynthesis in Fungal Plant Pathogens by *Bacillus* sp. Polish Journal of Environmental Studies 11 (5): 593-597.

El-hamshary, O.I.M., and A.A Khattab. 2008. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* and Their Fusants Against *Fusarium solani*. Research Journal of Cell and Molecular Biology, 2(2): 24-29.