



การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในรูปผง เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุของโรคใบจุดในพืชวงศ์กะหล่ำ

ชลธิชา วงษ์สุวรรณ* , พรพรรณ อุสุวรรณ , ศุภสุดา การุณี , เสาวณี คงศรี และพิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

*bbjn22785@gmail.com

บทคัดย่อ

ประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. โดยใช้เชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ B1-19, B2-2, B2-6, B2-21, B2-32, A1-2, A1-5, A1-12 และ A1-15 นำเชื้อ *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลตแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบ คือ cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate ไปพัฒนาให้เป็นรูปผง พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโรนาของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยมีค่าการยับยั้งอยู่ที่ 45.85-71.88, 48.08-70.07 และ 47.52-70.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ: ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. โรคใบจุด กะหล่ำ

Assessment of the efficacy of powdered formulations of *Bacillus* spp. for the control of *Alternaria* sp., the pathogen responsible for leaf spot disease in cruciferous crops

Chonthicha Wongsuwan*, Pornpan Usuwan , Supasuta Karoojee , Saowanee Kongsri and
Phitakphong Pompranee

Department of Plant Production Technology, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Pathom Rajabhat University
*bbjn22785@gmail.com

Abstract

The efficacy of powder formulations derived from *Bacillus* spp. was evaluated using nine *Bacillus* spp. isolates: B1-19, B2-2, B2-6, B2-21, B2-32, A1-2, A1-5, A1-12, and A1-15. Each isolate was prepared in three different forms: cell suspensions, culture filtrate, and a combination of cell suspensions and culture filtrate, which were then developed into powder formulations. The results revealed that all three powder forms-cell suspensions, culture filtrate, and the combination of cell suspensions and culture filtrate were able to inhibit the colony growth of *Alternaria* sp., with inhibition rates ranging from 45.85–71.88%, 48.08–70.07%, and 47.52–70.07%, respectively.

Keywords: Biocontrol agent., *Bacillus* spp., Leaf spot disease Cauliflower

1. บทนำ

เชื้อ *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อนทรงกระบอก (rod-shaped) ซึ่งอาจอยู่ในรูปแบบท่อนเดี่ยวหรือเรียงต่อกันเป็นสาย ย้อมติดสีแกรมบวก (gram-positive) และจัดอยู่ในวงศ์ *Bacillaceae* ซึ่งมีความใกล้ชิดกับ *Clostridium* และ *Desulfotomaculum* [1] เป็นแบคทีเรียพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน แหล่งน้ำและในส่วนต่าง ๆ ของพืช เนื่องจากแบคทีเรียมีความสามารถในการสร้างสปอร์ (endospore) ที่ช่วยป้องกันตัวเองจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต เช่น สภาวะแห้งแล้ง สภาพที่มีความเป็นกรด – ด่างสูงได้เป็นอย่างดี เป็นต้น ซึ่งทำให้แบคทีเรียมีความสามารถในการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา [2] นอกจากนี้ *Bacillus* spp. ยังมีกลไกการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สำคัญหลายรูปแบบ เช่น สามารถสร้างเอนไซม์ และผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ได้หลายชนิด เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtikin, baciysin, fengymycin และ mycobacillin เป็นต้น สารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อ *Bacillus* spp. มีความสามารถในการแข่งขันเพื่อความอยู่รอด เช่น มีความสามารถในการแย่งแย่งสารอาหาร และการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ซึ่งทำให้สามารถครอบครองพื้นที่บนผิวพืชได้ก่อนเชื้อสาเหตุโรค [3] นอกจากนี้ *Bacillus* spp. ยังมีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ช่วยป้องกันและควบคุมเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิด เช่น โรคใบจุดในพืชผักตระกูลกะหล่ำ และตระกูลมะเขือ ที่มีเชื้อสาเหตุจาก เชื้อรา *Alternaria* sp. โรคแอนแทรคโนส

ของไม้ผล สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โรคเหี่ยวเฉาของพืชตระกูลมะเขือ จึง สาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นต้น [4]

ปัจจุบันมีการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชอย่างแพร่หลาย และมีการพัฒนาชีวภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้สารเคมี โดยสามารถพัฒนาในรูปแบบสูตรน้ำ (liquid formula) และสูตรผง (powdered formula) ซึ่งมีข้อดี คือ สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และยังสามารถป้องกันการดื้อยาของศัตรูพืช [5] ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมุ่งเน้นประเมินประสิทธิภาพของ *Bacillus* spp. ในรูปแบบผงต่อการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดในพืชวงศ์กะหล่ำ เพื่อเป็นแนวทางในการนำชีวภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

2. วิธีการศึกษา

2.1 การเตรียมเชื้อ *Bacillus* spp.

นำเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ A1-2, A1-5, A1-12, A1-15, B1-19, B2-2, B2-6, B2-21 และ B2-32 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคในข้าว ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม มาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ โดยนำเชื้อ *Bacillus* spp. เลี้ยงบนอาหาร *Bacillus* Medium (BM) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในอาหารเหลว *Nutrient Broth* (NB) นำไปเขย่าบนเครื่องเซกเกอร์ที่ความเร็วรอบ 120 rpm/นาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำมาปั่นแยกเซลล์เชื้อแบคทีเรียกับอาหารออกจากกัน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (MMIKRO 22OR, Hettich zentrifugen made in Germany จากนั้นนำส่วน cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate นำมาผสมกับ magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, Carboxymethylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผงทัลคัม (Talcum) 1:4 (V:W) ผสมให้เข้ากัน ในสภาพปลอดเชื้อ และนำมาทดสอบกับเชื้อปฏิปักษ์

2.2 การเตรียมเชื้อรา *Alternaria* sp.

เชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม นำมาขยายลงในอาหาร *Potato Dextrose Agar* (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5-7 วัน เพื่อไว้ทดสอบต่อไป

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดผง *Bacillus* spp. ที่ขึ้นรูปมาจากเชื้อ *Bacillus* ในส่วนของเซลล์ ส่วนใส และอาหารที่มีเชื้อ มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ โดยวิธี dual culture test บนอาหาร *Potato Dextrose Agar* (PDA) โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคย้ายชิ้นวัน 2 ชิ้น ของเชื้อราสาเหตุโรคลงบนอาหาร PDA แล้ววางชีวภัณฑ์ผงของเชื้อ *Bacillus* spp. ในด้านตรงข้ามวันระยะห่างเท่ากัน โดยทำแยกกันแต่ละไอโซเลต ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ย้ายชิ้นวันของเชื้อราสาเหตุโรคลงบนอาหาร PDA โดยปล่อยให้เจริญเป็นอิสระเพื่อใช้เปรียบเทียบ (control) บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม และจาน control

2.4 การบันทึกผล

บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม และชุดควบคุม โดยคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent Inhibition of Diameter Growth = PIDG) ตามวิธีการของ [6] ดังนี้

$$PIDG = (D1 - D2) / D1 \times 100$$

D1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อใน control

D2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

ทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน โดยให้เป็นระดับคะแนนดังนี้

4 = > 75 PIDG (very high antagonistic activity)

3 = 61-75 PIDG (high antagonistic activity)

2 = 51-60 PIDG (moderate antagonistic activity)

1 = < 50 PIDG (low antagonistic activity)

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

3.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions มาขึ้นรูปเป็นผงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp.

จากผลการทดสอบความสามารถของชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions มาขึ้นรูปเป็นผงพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีอยู่ที่ 45.85-71.88 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุดคือ ไอโซเลต B1-19 ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 71.88 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยที่สุดคือ ไอโซเลต B2-6 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 45.85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านโดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ โดยไอโซเลต B1-19 อยู่ในระดับ 3 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสูง ไอโซเลต B2-21, B2-2, A1-15, A1-5, A1-12 และ B2-32 อยู่ในระดับ 2 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านปานกลาง และไอโซเลต A1-2 และ B2-6 อยู่ในระดับ 1 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านน้อย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions มาขึ้นรูปเป็นผงแต่ละไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

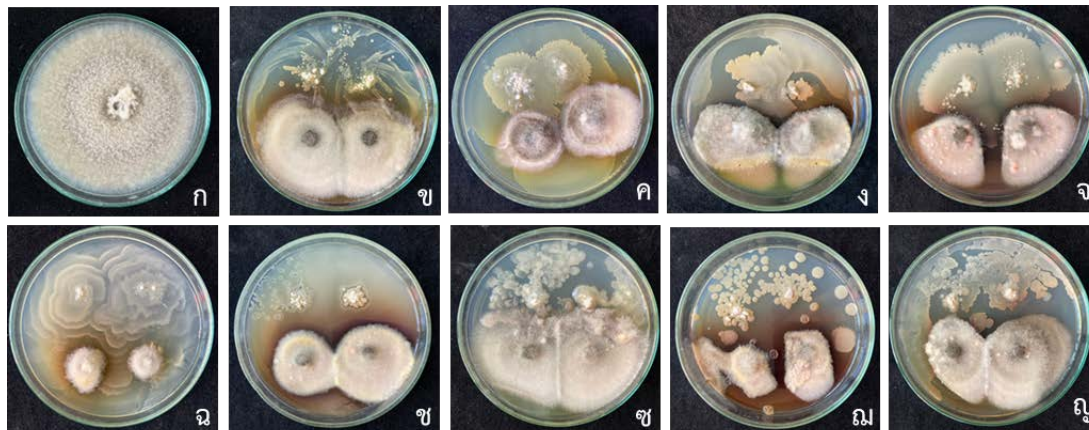
<i>Bacillus</i> Isolate	PIDG (%)	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน
A1-2	50.99	1
A1-5	52.32	2
A1-12	52.21	2
A1-15	53.41	2
B1-19	71.88	3
B2-2	53.85	2
B2-6	45.85	1

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions มาขึ้นรูปเป็นผงแต่ละไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของโคโคนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ (ต่อ)

<i>Bacillus</i> Isolate	PIDG (%)	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน
B2-21	58.21	2
B2-32	51.41	2

4 = > 75 PIDG (very high antagonistic activity), 3 = 61-75 PIDG (high antagonistic activity)

2 = 51-60 PIDG (moderate antagonistic activity), 1 = < 50 PIDG (low antagonistic activity)



ภาพที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions มาขึ้นรูปเป็นผงแต่ละไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของโคโคนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

ก. ชุดควบคุม ข. ไอโซเลต A1-2 ค. ไอโซเลต A1-5 ง. ไอโซเลต A1-12 จ. ไอโซเลต A1-15
 ฉ. ไอโซเลต B1-19 ช. ไอโซเลต B2-2 ซ. ไอโซเลต B2-6 ฌ. ไอโซเลต B2-21 ญ. ไอโซเลต B2-32

3.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผง ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

จากการทดสอบความสามารถของชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผงพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโคนี อยู่ที่ 48.08-70.07 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ ไอโซเลต B1-19 ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 70.07 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยที่สุดคือ ไอโซเลต B2-6 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 48.08 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านโดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ โดยไอโซเลต B1-19 และ B2-2 อยู่ในระดับ 3 คือ มีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสูง ไอโซเลต A1-2, A1-15, A1-5 และ B2-32 อยู่ในระดับ 2 คือ มีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านปานกลาง และไอโซเลต A1-12, B2-21 และ B2-6 อยู่ในระดับ 1 คือ มีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านน้อย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผงแต่ละไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

<i>Bacillus</i> Isolate	PIDG (%)	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน
A1-2	57.99	2
A1-5	54.74	2
A1-12	50.33	1
A1-15	57.16	2
B1-19	70.07	3
B2-2	63.35	3
B2-6	48.08	1
B2-21	48.96	1
B2-32	52.94	2

4 = > 75 PIDG (very high antagonistic activity), 3 = 61-75 PIDG (high antagonistic activity)

2 = 51-60 PIDG (moderate antagonistic activity), 1 = < 50 PIDG (low antagonistic activity)



ภาพที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผงแต่ละไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

ก. ชุดควบคุม ข. ไอโซเลต A1-2 ค. ไอโซเลต A1-5 ง. ไอโซเลต A1-12 จ. ไอโซเลต A1-15
ฉ. ไอโซเลต B1-19 ช. ไอโซเลต B2-2 ซ. ไอโซเลต B2-6 ฅ. ไอโซเลต B2-21 ญ. ไอโซเลต B2-32

3.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions + culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดพืชวงศ์กะหล่ำ

จากการทดสอบความสามารถของชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions + culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผง พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี อยู่ที่ 47.52-70.07 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ ไอโซเลต B1-19 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 70.07 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยที่สุด คือ ไอโซเลต A1-12 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 47.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน แบ่งระดับคะแนนได้เป็น 3 ระดับ โดยไอโซเลต B1-19 และ A1-2 อยู่ในระดับ 3 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสูง ไอโซเลต B2-21, A1-15, A1-5, B2-2 และ B2-32 อยู่ในระดับ 2 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน

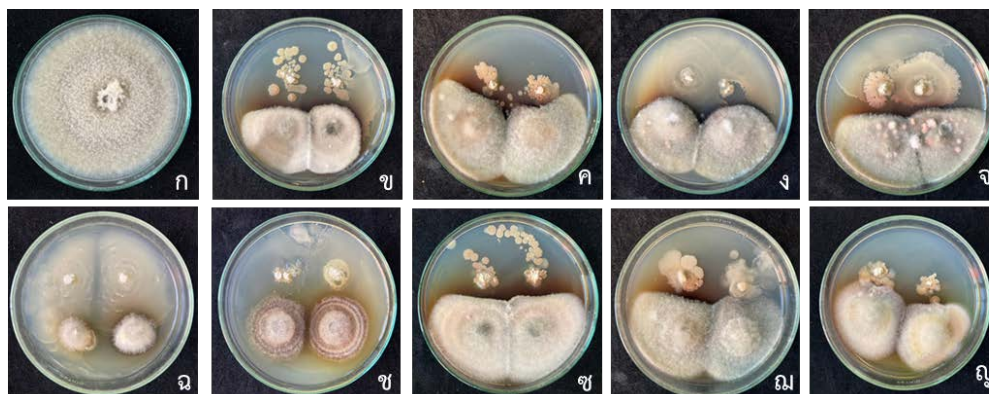
ปานกลาง และไอโซเลต B2-6 และ A1-12 อยู่ในระดับ 1 คือมีระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านน้อย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 และ ภาพที่ 3

ตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions + culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผง แต่ละไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

<i>Bacillus</i> Isolate	PIDG (%)	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน
A1-2	63.38	3
A1-5	52.38	2
A1-12	47.52	1
A1-15	52.88	2
B1-19	70.07	3
B2-2	52.19	2
B2-6	48.08	1
B2-21	53.35	2
B2-32	51.13	2

4= > 75 PIDG (very high antagonistic activity), 3 = 61-75 PIDG (high antagonistic activity)

2= 51-60 PIDG (moderate antagonistic activity), 1 = < 50 PIDG (low antagonistic activity)



ภาพที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์จากของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่นำ cell suspensions + culture filtrate มาขึ้นรูปเป็นผง แต่ละไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

ก. ชุดควบคุม ข. ไอโซเลต A1-2 ค. ไอโซเลต A1-5 ง. ไอโซเลต A1-12 จ. ไอโซเลต A1-15
 ฉ. ไอโซเลต B1-19 ช. ไอโซเลต B2-2 ซ. ไอโซเลต B2-6 ฌ. ไอโซเลต B2-21 ญ. ไอโซเลต B2-32

3.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

จากการนำชีวภัณฑ์ผงของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบ cell suspensions ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่าทุกไอโซเลตมีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยไอโซเลต B1-19 มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 71.88 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลต B2-21, B2-2 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และไอโซเลต A1-15, A1-5, A1-12,

B2-32 และ A1-2 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลต B2-6 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่าทุกไอโซเลตมีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยไอโซเลต B1-19 มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 70.74 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลต B2-2, A1-2, A1-15, A1-5, B2-32, A1-12, B2-21 และ B2-6 โดยไอโซเลต B2-32 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

สำหรับชีวภัณฑ์ของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบ culture filtrate ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่าทุกไอโซเลตมีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยไอโซเลต B1-19 มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 70.74 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลต B2-2, A1-2, A1-15, A1-5, B2-32, A1-12, B2-21 และ B2-6 โดยไอโซเลต B2-32 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ส่วนชีวภัณฑ์ของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบ cell suspensions + culture filtrate ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่าทุกไอโซเลตมีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยไอโซเลต B1-19 มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 70.07 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลต A1-2, B2-21, A1-5, B2-2, B2-6 และ A1-12 ไอโซเลต A1-2, B2-21 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ไอโซเลต A1-15, A1-5, B2-2 และ B2-32 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ไอโซเลต A1-12 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อ *Bacillus* spp. รูปแบบต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำ

Isolate	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (ร้อยละ)		
	cell suspensions	culture filtrate	cell suspensions + culture filtrate
A1-2	50.79 bc ^{1/}	57.99 bc ^{1/}	63.38 b ^{1/}
A1-5	52.32 bc	54.74 c	52.36 c
A1-12	52.21 bc	50.41 cd	47.52 cd
A1-15	53.41 bc	57.16 c	52.88 c
B1-19	71.88 a	70.74 a	70.07 a
B2-2	53.85 b	63.35 b	52.19 c
B2-6	45.85 c	42.10 e	48.08 d
B2-21	58.21 b	43.27 de	53.35 b
B2-32	51.38 bc	50.96 c	51.13 c
F-test	**	**	**
C.V. (%)	8.66	8.96	7.44

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4. การอภิปรายผลการวิจัย

ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อ *Bacillus* spp. ชนิดผงในรูปแบบต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชในวงศ์กะหล่ำในท้องปฏิบัติการ พบว่าสูตรชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยมีค่าการยับยั้งระหว่างที่ 45.85-71.88 , 48.08-70.07 และ 47.52-70.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสอดคล้องกับรายงานของ [7] ได้ทำการทดสอบชีวภัณฑ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลต โดยชีวภัณฑ์แบคทีเรีย เอนโดไฟท์ *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง

การเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* ได้ดีเมื่อทดสอบระดับห้องปฏิบัติการ การยับยั้งเท่ากับ 77.14% เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุม โรครากและโคนเน่าของต้นกล้วยเรียนในโรงเรือนทดลอง พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 สามารถควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้วยเรียนดีที่สุด พบการเกิดโรค ดัชนีความรุนแรงของโรค และการควบคุมโรค เท่ากับ 1.67, 0.33 และ 97.12% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006 พบจำนวนประชากรแบคทีเรียรวมในดินมากที่สุด เท่ากับ 1.01×10^7 cfu/g soil

5. สรุปผลการวิจัย

ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อ *Bacillus* spp. ชนิดผงในรูปแบบต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพืชในวงศ์กะหล่ำในห้องปฏิบัติการ พบว่าสูตรชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี เชื้อรา *Alternaria* sp. โดยมีค่าการยับยั้งระหว่างที่ 45.85-71.88 , 48.08-70.07 และ 47.52-70.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพรูปแบบของเชื้อ *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลตต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค พบว่ามีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. ได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. ไอโซเลต B1-19 รูปแบบของ cell suspensions, culture filtrate และ cell suspensions + culture filtrate มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาชีวภัณฑ์ชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* spp. เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคใบจุดของพืชวงศ์กะหล่ำและโรคพืชชนิดอื่น ๆ ต่อไป

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Food Information Network Center: Pimphen Pornchaloempong and Nittaya Rattanapanon. (2011). (In Thai)
- [2] Walailak Journal of Science and Technology. Volume 1, Issue 1, 2016. (In Thai)
- [3] Department of Microbiological Preparations, Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad Serbia, 2020
- [4] Department of Agriculture, Thailand. (In Thai)
- [5] Phongsathorn Pralokanon and Dusit Athinuwat. (2018). (In Thai)
- [6] Kasem Soithong. (1989). *Biological control of rice blast disease using Chaetomium cupreum*. *Plant Pathology Journal*, 9(1),28-33. (In Thai)
- [7] Pornsil Seephueak. (2024). Efficacy of bioproduct *Bacillus* spp. for controlling root and stem rot disease of durian caused by *Phytophthora palmivora* (Butler). (In Thai)