

ผลกระทบของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียต่อกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
Bacillus spp. และเชื้อราก่อโรคในดิน *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp.

อารยา จันทรศรี¹, พิสุทธิ เขียวมณี¹ และ ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล^{1*}

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

*chainarong.r@ku.th

บทคัดย่อ

เชื้อราในดินชนิด *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. เป็นสาเหตุสำคัญของความเสียหายในผลผลิตเกษตร โดยการควบคุมโรคทางดินนิยมใช้สารเคมี ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบชนิดของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรีย ที่จะส่งผลกระทบต่อกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ ผลต่อการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. การทดสอบผลของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยการวัดขนาดบริเวณใส (clear zone) และการวัดความขุ่นของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จำนวน 3 ไอโซเลต และ *B. velezensis* จำนวน 1 ไอโซเลต พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทุกไอโซเลตถูกยับยั้งด้วยสารผสม Gentamicin และ Oxytetracycline ได้มากที่สุด ขณะที่ สาร $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, Polyoxyethylene, ZnO และ Kasugamycin ส่งผลกระทบต่อเจริญของแบคทีเรียได้ลดลงตามลำดับ เชื้อ *Bacillus* spp. 4 ไอโซเลต ได้นำมาทดสอบความเข้ากันได้โดยวิธี cross streak ผลไม่พบการยับยั้งระหว่างเชื้อ ทำให้สามารถผสมรวมเป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เมื่อทดสอบผลของสารเคมีที่ความเข้มข้น 2000 ppm. กับกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราสาเหตุโรค *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. พบสารผสม $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$ ให้ผลควบคุมเส้นใยเชื้อราได้ 100 % และสาร Polyoxyethylene, ZnO และ Gentamicin ที่ผสม Oxytetracycline ควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้บางส่วน ทั้งนี้ไม่พบการเจริญของโคโคนีกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย สำหรับสาร Kasugamycin ไม่แสดงการยับยั้งการเจริญของกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ส่งผลในการควบคุมเชื้อราได้ 56.67 - 68.89 % ทั้งนี้ *Rhizoctonia* sp. ถูกยับยั้งได้มากกว่า *Phytophthora* sp. เมื่อใช้ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรีย และกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย แสดงให้เห็นว่าการใช้ร่วมกันของสาร $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, Polyoxyethylene, ZnO และ Kasugamycin กับกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพิ่มศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: กลุ่มเชื้อ *Bacillus* spp. *Phytophthora* sp. *Rhizoctonia* sp. สารเคมีทางการเกษตร



Impact of the antibacterial chemicals on antagonistic *Bacillus* spp. consortium and the pathogenic soil fungi: *Phytophthora* sp. and *Rhizoctonia* sp.

Araya Jansri¹, Pisut Keawmanee¹ and Chainarong Rattanakreetakul^{1*}

¹Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

*chainarong.r@ku.th

Abstract

Soil-borne fungi, particularly *Phytophthora* sp. and *Rhizoctonia* sp., are major causes of agricultural yield losses. The management of soil-borne diseases commonly relies on bactericidal chemicals, which may adversely affect beneficial microorganisms, especially *Bacillus* spp. This study aimed to determine the effects of bactericidal chemicals on *Bacillus* spp. and their efficacy in controlling *Phytophthora* sp. and *Rhizoctonia* sp. The effects of bactericidal chemicals on antagonistic bacteria were evaluated by measuring inhibition zones (clear zones) and bacterial turbidity using three isolates of *Bacillus subtilis* and one isolate of *Bacillus velezensis*. The results showed that all *Bacillus* spp. isolates were most strongly inhibited by the combination of Gentamicin and Oxytetracycline. In contrast, SiO₂ + Al₂O₃ + CaO, Polyoxyethylene, ZnO, and Kasugamycin exhibited progressively lower inhibitory effects on bacterial growth, respectively. The four *Bacillus* isolates were subsequently tested for compatibility using the cross-streak method. No antagonistic interactions were observed among the isolates, indicating that they were compatible and could be combined into a *Bacillus* consortium. The consortium was then evaluated in combination with bactericidal chemicals at a concentration of 2,000 ppm. against *Phytophthora* sp. and *Rhizoctonia* sp. The combined treatment with SiO₂ + Al₂O₃ + CaO completely inhibited fungal mycelial growth. Polyoxyethylene, ZnO, and the combination of Gentamicin and Oxytetracycline also exhibited high antifungal activity; however, these treatments completely inhibited the growth of the *Bacillus* consortium. In contrast, Kasugamycin did not inhibit the growth of the *Bacillus* consortium, allowing its combined application with the bacteria to suppress fungal growth by 56.67–68.89%. The results also demonstrated that *Rhizoctonia* sp. was more sensitive than *Phytophthora* sp. to treatments combining bactericidal chemicals with the *Bacillus* consortium. Overall, the combined application of SiO₂ + Al₂O₃ + CaO, Polyoxyethylene, ZnO, and Kasugamycin with the *Bacillus* consortium effectively controlled both *Phytophthora* sp. and *Rhizoctonia* sp.

Keywords: Consortium, *Bacillus* spp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., Agrochemicals

1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการผลิตและส่งออกพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ข้าว มะเขือเทศ พริก ทุเรียน และกล้วยไม้ อยู่ในระดับแนวหน้าของโลก ในระหว่างการผลิต เกษตรกรพบปัญหาของการเข้าทำลายจากเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในดินอาทิ เชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ที่ก่อให้เกิดโรครากเน่า โคนเน่าในไม้ผล และโรคเน่าคอดิน สร้างความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตร เชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงการเก็บเกี่ยว ทั้งนี้ การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นแนวคิดของการจัดการเกษตรเพื่อความยั่งยืน โดยการใช้เชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bacillus subtilis* และ *Bacillus velezensis* จึงถูกนำมาใช้ในการจัดการโรคพืช เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้มีศักยภาพในการผลิตสารปฏิชีวนะ การตรึงธาตุอาหาร สร้างฮอโมน และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช ทำให้พืชเจริญได้ดี และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ในปัจจุบันความนิยมของเกษตรกรในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชยังเน้นการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชร่วมด้วย ซึ่งส่งผลกระทบต่อจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทางดินที่ใช้ในระบบเกษตร และปัญหาของผลกระทบจากสารเคมีที่ใช้ต่อปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในกลุ่มเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วย

การพัฒนากลุ่มเชื้อแบคทีเรีย (bacterial consortium) เป็นแนวทางหนึ่งที่จะนำมาแก้ไขปัญหาลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดเดียวเพื่อการควบคุมโรคพืช เนื่องจากเชื้อแต่ละชนิดมีบทบาทและศักยภาพที่แตกต่างกัน เมื่อนำมารวมกลุ่มเชื้อแบคทีเรียจึงมีความสามารถในการเสริมประสิทธิภาพซึ่งกันและกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการทดลองนี้จึงสร้างกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* และ *B. velezensis* ที่สามารถอยู่ร่วมกัน เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตทางการเกษตร รวมทั้งติดตามการตอบสนองกับกลุ่มสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการพัฒนาแนวทางการจัดการโรคพืช และระบบการผลิตทางการเกษตรอย่างยั่งยืน

2. วิธีวิจัย

2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ประกอบด้วย *B. subtilis* จำนวน 3 ไอโซเลท และ *B. velezensis* ได้รับความอนุเคราะห์โดยรองศาสตราจารย์ ดร.ชัยณรงค์ รัตนกริชากุล จากห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาต้านโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร Nutrient Agar (NA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บเชื้อสำหรับการทดสอบต่อไป

2.2 การคัดเลือกและทดสอบสารเคมีและสารเสริมประสิทธิภาพต่อเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

สารเคมีและสารเสริมประสิทธิภาพบางชนิด ที่มีแนวโน้มในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ชนิด มีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 ได้แก่ สารที่มีจำหน่ายเพื่อการเกษตร Validamycin, Gentamicin ผสม Oxytetracycline, Kasugamycin, Ca solution และสารเคมีเพื่อผสมดินแนวโน้มน ได้แก่ $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, Silicon dioxide, ZnO, Polyoxyethylene และ Zinc thiazole โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบมี 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 1,000, 2,000, 3,000 และ 4,000 ppm.

ตารางที่ 1 ข้อมูลของสารเคมีที่ใช้ทดสอบ เพื่อทราบผลกระทบต่อเชื้อ *Bacillus* spp.

ลำดับ	สารออกฤทธิ์	อัตรา/20 L	FRAC	แนะนำให้ใช้
1	Validamycin 3% w/v SL	30 ml	U18	โรคกาบใบแห้งในนาข้าว (<i>Rhizoctonia solani</i>)
2	Gentamicin sulfate 2 % + Oxytetracycline 6% WP	50 g	41	โรคขอบใบแห้งในข้าว (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>)
3	Kasugamycin hydrochloridehydrate 2% w/v SL	30 ml	24	โรคใบกาบใบแห้งในนาข้าว (<i>Rhizoctonia solani</i>)
4	Ca solution 3%	30–40 ml	-	ช่วยขยายขนาดของผล
5	SiO ₂ + Al ₂ O ₃ + CaO	-	-	สารเคมีร่วมทดสอบ
6	Silicon dioxide (SiO ₂)	-	-	สารเคมีร่วมทดสอบ
7	Zinc Oxide (ZnO)	-	-	สารเคมีร่วมทดสอบ
8	Polyoxyethylene 10% w/v	5–10 ml	-	ช่วยเสริมประสิทธิภาพสารกำจัดโรคพืช ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น
9	Zinc thiazole 20% w/v SC	200 ml	6	โรคแคงเกอร์ (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>) และ โรคขอบใบแห้งในข้าว (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>)

2.2.1 ผลกระทบของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient agar (NA)

นำสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ละชนิด ที่เลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) อายุ 24 ชั่วโมง ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร NA ที่ทิ้งไว้ 30 นาที นำกระดาษกรอง เบอร์ 1 เส้นผ่าศูนย์กลาง 40 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว มาวางบนผิวหน้าอาหารให้ห่างกัน จำนวน 9 ชิ้น จากนั้นหยดสารเคมีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 2,000, 3,000 และ 4,000 ppm. บนกระดาษกรอง ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อกระดาษกรอง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง ตรวจวัดขนาดบริเวณใส (clear zone) ที่พบ

2.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียในสภาพอาหารเหลว

ทำการยืนยันประสิทธิภาพการยับยั้งของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจากการทดสอบในข้อ 2.2.1 นำสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ละชนิดในอาหาร nutrient broth (NB) อายุ 24 ชั่วโมง ปรับปริมาตรความขุ่นของสารละลายเชื้อ ให้ได้ค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 1 นำเชื้อแบคทีเรียปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่ผสมสารเคมี ที่ จำนวน 5 ชนิด Gentamicin ผสม Oxytetracycline, Kasugamycin, Polyoxyethylene, SiO₂ + Al₂O₃ + CaO และ ZnO ทดสอบที่ความเข้มข้น 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm. บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้อง 30-32 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า Shaker รุ่น NB-101M ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ทำการวัดค่าความขุ่นของเชื้อ ที่อายุ 48 ชั่วโมง

2.3 การทดสอบความเข้ากันได้เพื่อเตรียมกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบความเข้ากันได้ของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ใช้ในการทดสอบ เพื่อรวมเป็นกลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. (*Bacillus consortium*) ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลท โดยการฉีดเชื้อ *Bacillus* spp. ต่างไอโซเลทในแนวตั้ง และแนวนอน ในจานเลี้ยงเชื้อเดียวกัน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการตอบสนองของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่เจริญในบริเวณจุดตัด สังเกตผลการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน

2.4 การทดสอบสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียกับกลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราก่อโรคในดินในสภาพ poisoned food technique

นำสารเคมีที่มีประสิทธิภาพจากหัวข้อที่ 2.2 จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ Gentamicin ผสม Oxytetracycline, Kasugamycin, $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, ZnO และ Polyoxyethylene มาทดสอบการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่า โดยวิธี poisoned food technique โดยเพิ่มกลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ร่วมกับเส้นใยเชื้อราก่อโรคในดิน *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ในลักษณะ dual culture ผสมสารเคมีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm. ผสมสารให้เข้ากันก่อนเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการย้ายชิ้นอาหารที่มีเชื้อราลงไปในอาหารทดสอบอยู่กึ่งกลางเพลท จากนั้นนำกลุ่มเชื้อ *Bacillus* spp. มาขีดบนอาหารที่ทดสอบทั้ง 4 ด้าน ทำการตรวจวัดการเจริญของโคโลนีของเชื้อราทดสอบภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เปรียบเทียบกับในชุดควบคุมการเจริญ และสังเกตการตอบสนองของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp.

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

คำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ข้อมูลประสิทธิภาพสารเคมีทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อราก่อโรคพืช วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของสารเคมีและสารเสริมประสิทธิภาพต่อเชื้อแบคทีเรีย

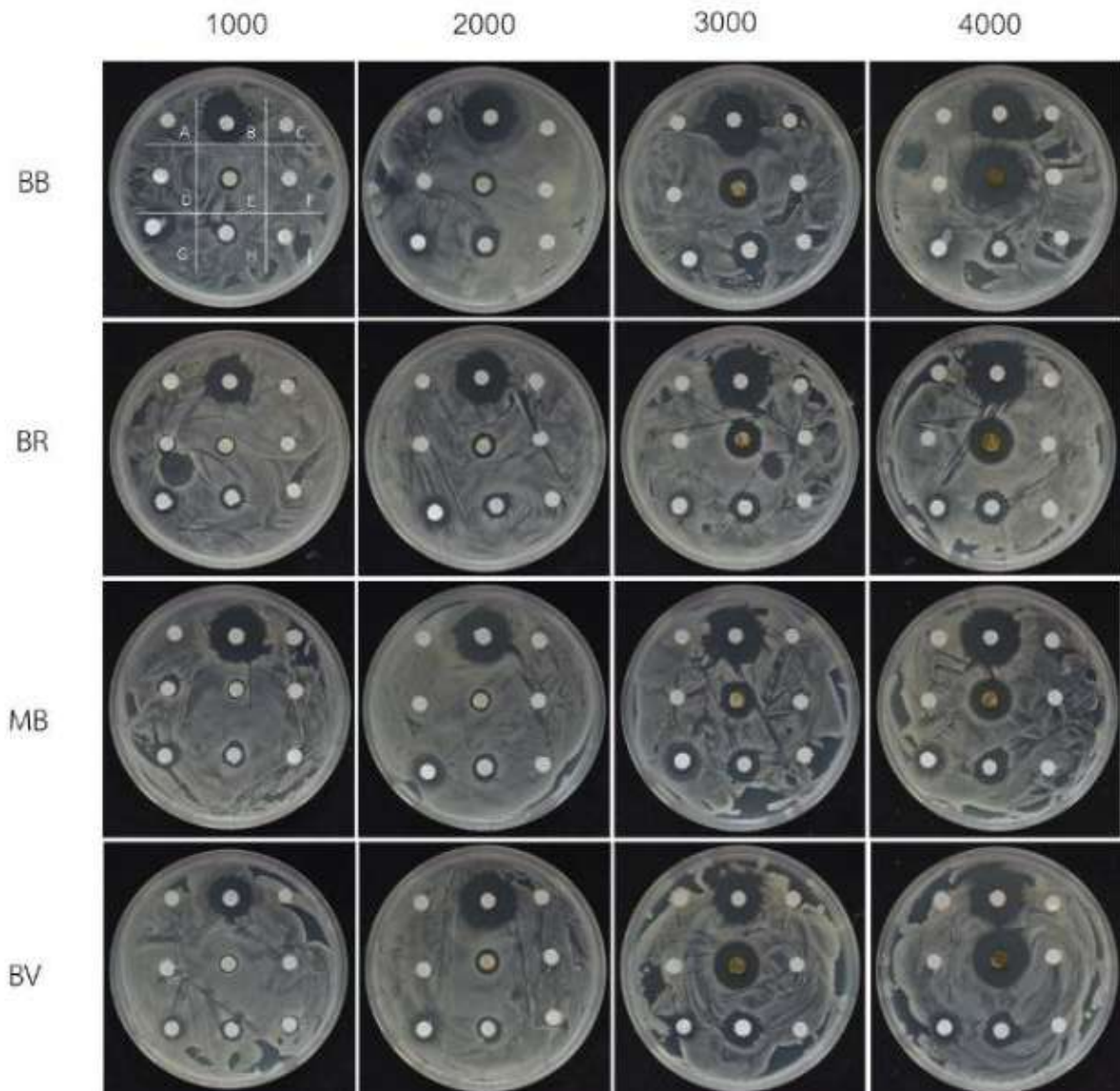
3.1.1 การทดสอบการเกิด clear zone ของแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* 3 ไอโซเลท และ *B. velezensis* กับสารเคมีทางการเกษตร 9 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2 บันทึกช่วงความกว้างของ clear zone ภายหลังการทดสอบ 5 วัน โดยแสดงผลความกว้างของ clear zone ออกเป็นช่วง ผลดังแสดงในตารางที่ 2 โดยกำหนดเป็น 3 ค่า สีเขียว ไม่พบ clear zone, สีเหลือง พบ clear zone ขนาด 0.1 – 1.4 เซนติเมตร และสีแดงพบ clear zone ขนาด มากกว่า 1.5 เซนติเมตร



ตารางที่ 2 ช่วงความกว้างการเกิด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* 3 ไอโซเลท (BB, BR, MB) และ *Bacillus velezensis* (BV) ทดสอบที่ความเข้มข้น 1,000, 2,000, 3,000 และ 4,000 ppm. สังเกตที่ระยะ 5 วัน

ชื่อสารเคมี	ความเข้มข้นของสารเคมีทดสอบ (ppm.)															
	1,000				2,000				3,000				4,000			
	BB	BR	MB	BV	BB	BR	MB	BV	BB	BR	MB	BV	BB	BR	MB	BV
Validamycin																
Gentamicin+ Oxytetracycline																
Kasugamycin																
Ca solution																
SiO ₂ + Al ₂ O ₃ + CaO																
Silicon dioxide																
ZnO																
Polyoxyethylene																
Zinc thiazole																

-  = ช่วงความกว้างของ clear zone เชื้อแบคทีเรียมีค่าเป็น 0
 = ช่วงความกว้างของ clear zone เชื้อแบคทีเรียมีค่าเป็น 0.1 – 1.4 เซนติเมตร
 = ช่วงความกว้างของ clear zone เชื้อแบคทีเรียมีค่าตั้งแต่ 1.5 เซนติเมตร ขึ้นไป

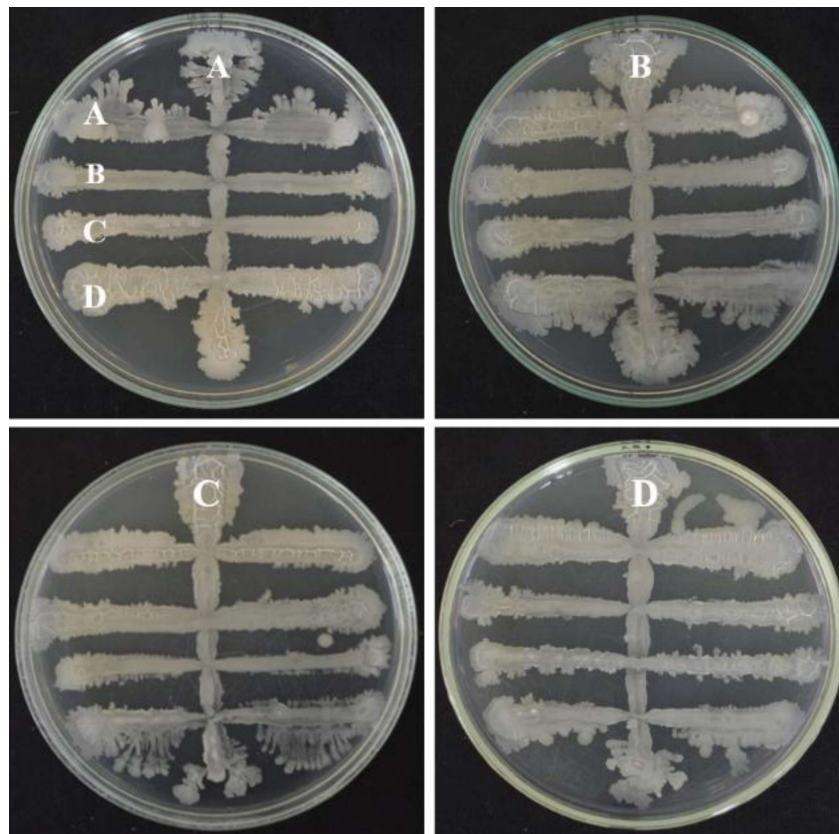


ภาพที่ 1 ลักษณะการเกิด Clear Zone ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* 3 ไอโซเลท (BB, BR, MB) และ *Bacillus velezensis* (BV) A. Validamycin, B. Gentamicin ผสม Oxytetracycline, C. Kasugamycin, D. Ca solution, E. $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, F. Silicon dioxide G. ZnO H. Polyoxyethylene, I. Zinc thiazole

สารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่มีรายงานว่าอาจส่งผลกระทบต่อการใช้ของเชื้อ *Bacillus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จากการทดสอบการวัด clear zone และวัดความขุ่นของแบคทีเรียที่เจริญในสภาพทดสอบกับสารเคมีชนิดต่าง ๆ พบว่า Gentamicin ผสม Oxytetracycline ยังยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ Silicon dioxide, ZnO, Polyoxyethylene และ Kasugamycin ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) และสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ของเชื้อ ได้แก่ Validamycin, Zinc thiazole, Ca solution, Silicon dioxide ทั้งนี้ประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะที่นำมาทดสอบพบว่า มีรายงานผลกระทบต่อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อราในดินบางชนิด จากรายงานของ Verhaegen et.al. [1] พบว่า Validamycin มีรายงานการใช้เพื่อควบคุม *Xanthomonas* sp. ในประเทศจีน สำหรับในกลุ่มประเทศอเมริกาได้มีการขึ้นทะเบียน Gentamicin เพื่อใช้ควบคุมแบคทีเรีย *Clavibacter* sp., *Pectobacterium* sp., *Ralstonia* sp., และ *Xanthomonas* sp. และ Kasugamycin มีการขึ้นทะเบียนเพื่อใช้ควบคุม *Acidovorax* sp., *Burkholderia* sp., *Pseudomonas* sp. และ

Xanthomonas sp. ในประเทศบราซิล, แคนาดา, ญี่ปุ่น, และ สหรัฐอเมริกา แต่ในประเทศไทย พบ Validamycin ขึ้นทะเบียนเพื่อการควบคุมโรคกาบใบไหม้ข้าวโพดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ไม่พบการขึ้นทะเบียนให้ใช้กับแบคทีเรีย และสาร Gentamycin มีการขึ้นทะเบียนเพื่อควบคุมโรคกล้วยจากเชื้อรา *Fusarium* spp. สำหรับ Kasugamycin ไม่พบในรายงานของ Srijamnan Srijantra and Pruttichat Punwattho [2] แต่ทั้งนี้ Kasugamycin พบในคำแนะนำการจำหน่ายให้ใช้ในการควบคุมโรคกาบใบแห้ง ขอบใบแห้ง และใบไหม้ในข้าว สำหรับสารกลุ่ม ZnO, Silicon dioxide มีรายงานเพื่อควบคุม *Xanthomonas* sp. และ *Rhizoctonia solani* ในข้าว Tan et.al. [3] แต่ในประเทศไทยมีคำแนะนำจากบริษัทให้ใช้เพื่อคุมแบคทีเรียโรคพืช *Xanthomonas* sp. ในลักษณะสารเสริมประสิทธิภาพ จากงานวิจัยของ Meena et.al. [4] ได้ชี้ให้เห็นถึงผลกระทบของสารศัตรูพืชหลายชนิดที่มีผลต่อ การตรึงไนโตรเจน, การยับยั้งโปรตีน และการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทางการเกษตรส่งผลต่อศักยภาพในการควบคุมโรค และผลกระทบของสารเคมีทางการเกษตรต่อเชื้อจุลินทรีย์ในดิน และในงานของ Natthaphon KhongKhaluang [5] ที่มีการทดสอบสารเสริมประสิทธิภาพกลุ่มสารจับใบกลุ่ม Organo silicone ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อแบคทีเรียทางการเกษตรได้

3.2 การทดสอบการเข้ากันได้ของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *B. velezensis*



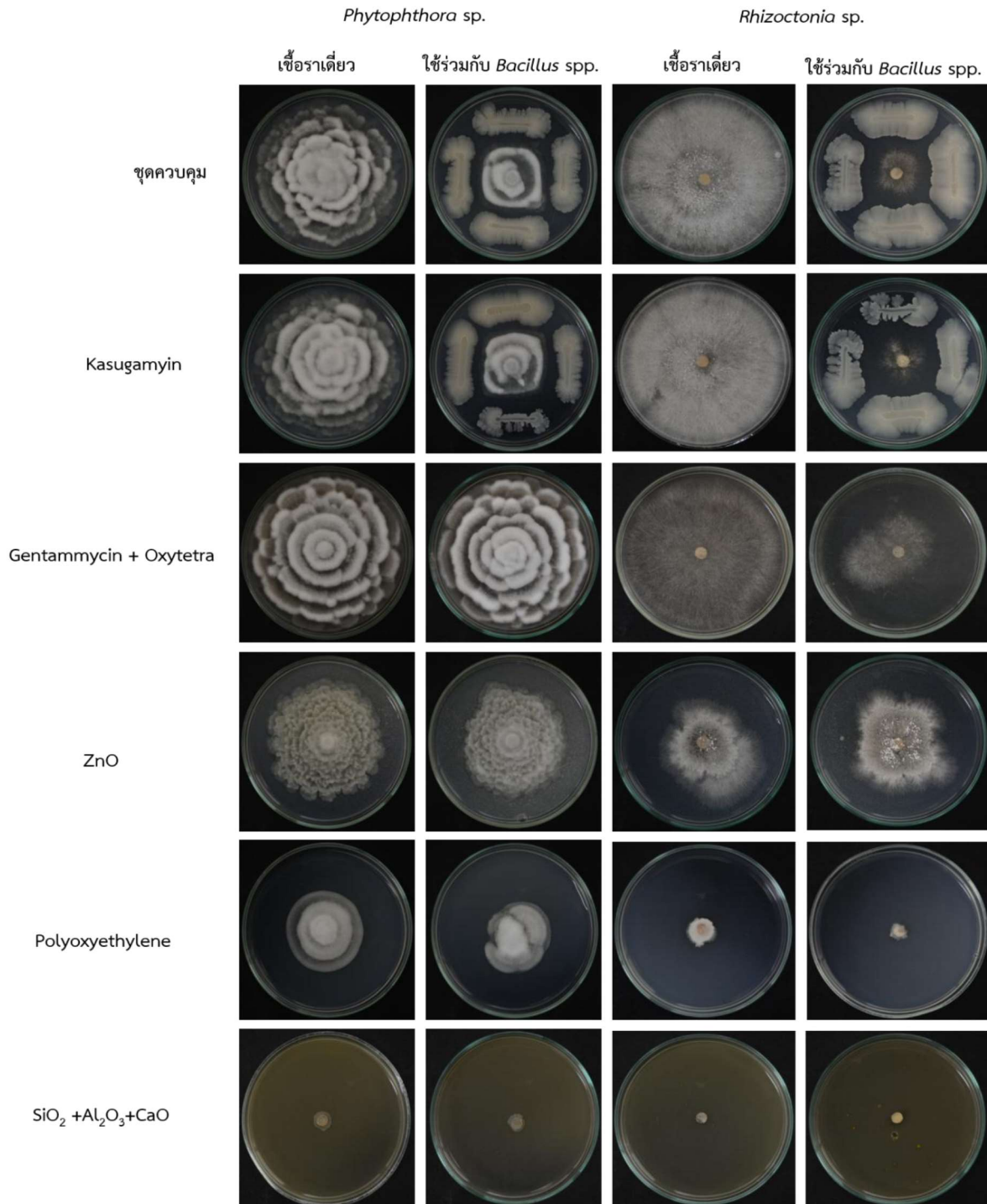
ภาพที่ 2 การทดสอบการอยู่ร่วมกันของเชื้อ *Bacillus subtilis* A. ไอโซเลต BV, B. ไอโซเลต BB, C. ไอโซเลต BR และ *Bacillus velezensis* D. ไอโซเลต BV

จากการทดสอบการเข้ากันได้ของเชื้อ *Bacillus* spp. ได้แก่ *B. subtilis* 3 ไอโซเลต และ *B. velezensis* โดยนำเชื้อ *Bacillus* spp. มาขีดไขว้เพื่อดูการอยู่ร่วมกันได้ (ดังแสดงในภาพที่ 2) และจากการสังเกตที่ระยะ 1, 2, 3, 7 และ 14 วัน ไม่พบการยับยั้งซึ่งกันและกัน ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่ากลุ่มเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถอยู่ร่วมกันได้ จึงได้นำมาสร้างเป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และนำมาทดสอบต่อไป

3.3 การทดสอบการตอบสนองของเชื้อราก่อโรคในดินในสภาพที่ได้รับสารเคมีร่วมกับกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp.

ผลการทดสอบสารเคมีที่คัดเลือกไว้ 5 ชนิด ที่ส่งผลต่อการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. (ภาพที่ 3) พบว่า สาร $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$ สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทดสอบได้ 100% รองลงมาคือ Polyoxyethylene ซึ่งอยู่ในกลุ่มสารจับใบ ZnO และ Gentamycin ผสม Oxytetra ทั้งนี้จะพบ *Rhizoctonia* sp. ถูกยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า *Phytophthora* sp. ในขณะที่ Kasugamycin ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราทดสอบทั้งสองชนิด

เมื่อทดสอบศักยภาพในการควบคุมเชื้อราในดินร่วมกันระหว่างสารทดสอบที่มีรายงานการควบคุมแบคทีเรีย และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ผลดังแสดงในภาพที่ 3 และ ตารางที่ 3 โดยพบกลุ่มแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ได้รับผลกระทบจากสาร $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaO}$, Polyoxyethylene, ZnO และ Gentamycin ผสม Oxytetracycline โดยสังเกตจากการไม่พบการเจริญจากรอยขีดแบคทีเรีย ยกเว้นในชุดทดสอบร่วมกับ Kasugamycin ทำให้เห็นการร่วมกันยับยั้งโคโลนีของเชื้อรา โดยพบการยับยั้งการเจริญของ *Rhizoctonia* sp. ได้ 68.61% ดีกว่าชุดควบคุมเฉพาะเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ยับยั้งได้ 64.44% สำหรับ *Phytophthora* sp. มีการยับยั้งได้ 56.67% ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีเฉพาะเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีการยับยั้ง 55.56% (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าการใช้ร่วมกันของสารควบคุมแบคทีเรีย ต่อแบคทีเรียปฏิปักษ์จะมีข้อจำกัดในการใช้จากสารทดสอบหลายชนิด อาจส่งผลกระทบต่อการยับยั้งแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เป็นแกรมบวกในกลุ่ม *Bacillus* spp. ทั้งนี้จากรายงานของ Juthathip Jitnum et.al. [6] ได้แสดงให้เห็นว่าศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เมื่อใช้ร่วมกับสารเคมีสามารถควบคุมเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตามผลวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ด้วยสารเคมีร่วมกับกลุ่มของเชื้อ *Bacillus* spp. มีโอกาสควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้เพิ่มขึ้นทั้งนี้ขึ้นกับการเลือกใช้สารเคมีด้วย



ภาพที่ 3 ลักษณะการตอบสนองของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ที่ถูกยับยั้งด้วยสารเคมีร่วมกับกลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp.

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ในสภาพทดสอบร่วมกับกลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. บนอาหารที่ผสมสารทดสอบความเข้มข้น 2,000 ppm. ที่ระยะเวลา 5 วัน

ชุดทดลอง	เชื้อราที่ใช้ทดสอบ	
	<i>Phytophthora</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.
ชุดควบคุม	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^e
ชุดควบคุม + <i>Bacillus</i> spp.	55.56 ± 0.00 ^b	64.44 ± 0.00 ^c
Kasugamycin + <i>Bacillus</i> spp.	56.67 ± 1.57 ^b	68.61 ± 1.17 ^{bc}
Gentamycin + <i>Bacillus</i> spp.	0.00 ± 0.00 ^d	34.17 ± 24.75 ^d
ZnO ₂ + <i>Bacillus</i> spp.	29.17 ± 1.97 ^c	36.95 ± 1.18 ^d
Polyoxyethylene + <i>Bacillus</i> spp.	53.89 ± 2.36 ^b	88.61 ± 1.94 ^{ab}
SiO ₂ +Al ₂ O ₃ +CaO + <i>Bacillus</i> spp.	100.00 ± 0.00 ^a	100.00 ± 0.00 ^a
F-test	***	***
C.V. (%)	3.09	16.76

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอมลันน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. สรุปผล

สารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่มีจำหน่ายมีผลกระทบต่อ *Bacillus* spp. ได้แตกต่างกัน ผลการทดสอบสารเคมีทางการเกษตร Validamycin, Gentamicin ที่ผสม Oxytetracycline, Kasugamycin, Ca solution, SiO₂+ Al₂O₃+ CaO, Ca solution, ZnO, Polyoxyethylene และ Zinc thiazole พบว่าสาร Gentamycin ที่ผสม Oxytetracycline มีการยับยั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์ได้มากที่สุด ขณะที่ Polyoxyethylene และ ZnO มีการยับยั้งเพียงเล็กน้อย และพบว่า *Bacillus* spp. ที่รวมเชื้อกันไม่มีการยับยั้งกันเองทำให้ได้กลุ่มเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ศักยภาพของสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะ SiO₂+Al₂O₃+CaO สามารถควบคุมเชื้อราในดินทั้ง 2 ชนิด ได้ดีแต่ผลกระทบที่มีต่อกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ก็มีสูงเช่นกัน ในการศึกษาครั้งนี้พบ Kasugamycin ไม่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่สามารถควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และ *Phytophthora* sp. ได้ดีตามลำดับเมื่อใช้ร่วมกัน ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงการสามารถอยู่ร่วมกันได้ของกลุ่มเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลท และมีความสามารถใช้ร่วมกับสารเคมี Kasugamycin ที่ไม่มีผลการยับยั้งจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ แล้วมีศักยภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราได้ และสามารถนำไปพัฒนาเป็นแนวทางการจัดการโรคพืชแบบผสมผสาน ที่ช่วยลดการพึ่งพาสารเคมีเพียงอย่างเดียว และส่งเสริมความยั่งยืนในระบบการผลิตทางการเกษตร

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] Verhaegen, M., Bergot, T., Liebana, E., Stancanelli, G., Streissl, F., Mingeot-Leclercq, M-P., Mahillon, J., & Bragard, C. (2023). On the use of antibiotics to control plant pathogenic bacteria: a genetic and genomic perspective. *Frontiers in Microbiology*. 14:1221478. page 1-17.



- [2] Srijamnan Srijantra and Pruttichat Punwattho. (2025). Academic Document: Recommendations for the Use of Pesticides from Research. 2025. Research Project on Enhancing Pest Control Capacity by Reducing Chemical Use for Sustainable Good Agricultural Practices and Research Project on Plant Protection Technology to Address Pest Resistance and Overuse of Pesticides in Large-Scale Farming Systems. Department of Agriculture. 287 pages. (In Thai)
- [3] Tan, N., Yuan, W., Xu, Y., Wang, J., Yuan, B., Huo, H., Qiu, W. & Zhou, Y. (2025). Migrated silicon dioxide nanoparticles activates the rice immunity for systemic resistance against two pathogens. *Advanced Agrochem.* 4: 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.aac.2024.11.001>
- [4] Meena, R.S., Kumar, S., Datta, R., Lal, R., Vijayakumar, V., Brtnicky, M., Sharma, M.P., Yadav, G.S., Jhariya, M.K., Jangir, C.K., Pathan, S.I., Dokulilova, T., Pecina, V., & Marfo, T.D. (2020). Impact of Agrochemicals on Soil Microbiota and Management: A Review. *Land*, 9, 34. page 1-21.
- [5] Natthaphon KhongKhaluang. (2025). Effects of Agricultural Adjuvants on the Potential to Azoxystrobin Fungicide. Master of Science. Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus. (In Thai)
- [6] Juthathip Jitnum, Pattavipha Songkumarn, Supot Kasem & Veeranee Tongsri. (2026). Effects of fungicides combined with antagonistic fungi and bacteria on the mycelial growth of *Fusarium* spp., the causal agents of dieback disease in durian. *RMUTSB Acad. J.*, 14(1). page 1-14. (In Thai)