การทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจาก เชื้อรา*Alternaria brassicicola*

Efficacy test of *Bacillus subtilis* for controlling *Alternaria brassicicola* , causal agent of kale leaf spot

บุษราคัม อุดมศักดิ์ [๑/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[๑/] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[๑/] วรางคนา แช่อ้วง[๒/]

๕. บทคัดย่อ:

ในปี พ.ศ. ๒๕๕๔ ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus sp.* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* (Ab) สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ซึ่งผ่านการคัดเลือกสายพันธุ์จากห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดสอบ ๖ ไอโซเลท ได้แก่ ๒๐W๔ ๒๐W๑ ๒๐W๕ ๒๐W๑๒ ๑๗G๑๘ และ SA๖ โดยนำไปทดสอบในแปลงปลูกที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ๒ ฤดู โดยวิธีการพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในระหว่างเดือนธันวาคม ๒๕๕๓ – กุมภาพันธ์ ๒๕๕๔ และฤดูที่ ๒ ระหว่างเดือนมิถุนายน ๒๕๕๔ – สิงหาคม ๒๕๕๔ พบว่า ในฤดูที่ ๑ หลังการทดสอบ ๗ วัน *Bacillus* sp. ทั้ง ๖ ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb ๘๐% WP โดยไอโซเลท ๑๗G๑๘ ๒๐W๕ และ ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค การทดสอบในฤดูที่ ๒ พบว่า ไอโซเลท ๒๐W๔ ๒๐W๑๒ และ ๒๐W๑๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. โดยไอโซเลท ๒๐W๔ มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP ในปี ๒๕๕๕ ได้นำ ๕ ไอโซเลท ได้แก่ ๒๐W๔ ๒๐W๑ ๒๐W๕ ๒๐W๑๒ และ ๑๗G๑๘ มาปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์ผง และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าใน สภาพแปลงปลูก ที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี ระหว่างเดือนมกราคม - มีนาคม ๒๕๕๕ พบว่า ทั้ง ๕ ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลท ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุด โดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ ๓๒.๘๘% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร mancozeb ๘๐% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้น ในปี ๒๕๕๖ ได้ทำการทดสอบอัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง *B. subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า โดยทดสอบ ๕ อัตรา ของ Bs ไอโซเลท ๒๐W๑ ที่ จ. กาญจนบุรี พบว่า อัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา ๒๐-๓๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb ๘๐% WP และอัตรา ๔๐ – ๕๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กลุ่มวิจัยโรคพืช[๑/]
กลุ่มบริหารศัตรูพืช[๒/] สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

๖. คำนำ:

คะน้า (*Brassica alboglabra*) เป็นผักที่นิยมบริโภคทั้งในประเทศและเป็นสินค้าส่งออกไปต่างประเทศ แต่ประเทศไทยมักประสบปัญหาการส่งออกพืชผัก เนื่องจากมักตรวจพบสารเคมีตกค้างในผักเกินกว่าค่าที่กำหนด ซึ่งปัญหาหลักของการปลูกคะน้าคือโรคและแมลงศัตรู โดยโรคพืชที่สำคัญคือ โรคใบจุดซึ่งเกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* (Schw.) Wiltshire เป็นเชื้อราที่มักทำให้เกิดโรคกับพืชตระกูลผักกาด อาการของโรคเกิดทุกส่วน พบได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช อาการในต้นแก่มักพบบนใบและก้าน เกิดเป็นแผลจุดเล็ก ๆ สีเหลือง ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น สีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นวงค่อนข้างกลม เรียงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ สปอร์ของเชื้อราแพร่ไปตามลม น้ำ แมลง สัตว์ มนุษย์ และติดไปกับเครื่องมือ ระบาดมากในฤดูฝนหรือสภาพที่มีความชื้นสูง (พรพิมล, ๒๕๕๒) การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี ซึ่งในประเทศไทยได้มีการศึกษาวิจัยการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชและสามารถพัฒนาจนได้เป็นสารชีวินทรีย์หลายชนิดที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทียบได้กับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ทำการผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH๔ ใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียหลายชนิด 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/kasetresearch๕๒/๐๔-plant/.../plant_๐๐.html -)

นอกจากนี้มีชีวินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ใช้ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวหรือโรคที่เกิดจากเชื้อราในดินของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดย *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราได้หลายชนิด สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไป ในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ ฯลฯ ณัฏฐิมาและคณะ (๒๕๔๘) ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus* sp. จากดิน, รากพืชและปุ๋ยคอก ได้จำนวน ๕๒๕ ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า มี ๔ ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ ๗๐-๑๐๐% นอกจากนี้ วรรณวิไล และคณะ (๒๕๔๘) ได้ทดลองพ่น *Bacillus* sp. ไอโซเลท WS ๑๖ และWS ๑๘ ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูก พบว่า ทั้งสองไอโซเลท สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นด้วยน้ำนึ่ง ปี ๒๕๕๐ บุษราคัม และ ณัฏฐิมา (๒๕๕๐) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ พบว่า *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒G๔, ๒๒W๑๐, ๒๐W๑๒,๑๗G๑๘ และ ๒๐W๔ มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ ๑๐๐% และไอโซเลท ๑๗G๑๘ มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวแตงกวา ๑๐๐% โดยไอโซเลท ๑๗G๑๘ สามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากทั้งเชื้อรา *F. oxysporum* และ *F. solani*

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. โดยเฉพาะ *B. subtilis* ซึ่งผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชแล้ว มาทดสอบในสภาพแปลงปลูก เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้ในอนาคต เพื่อเกษตรกรจะได้นำไปใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไป

๗. วิธีดำเนินการ:

<u>อุปกรณ์</u>

๑. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)

๒. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

๓. ผงทัลคัม

๔. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ

๕. ดินปลูก

๖. กระถางปลูก

๗. แปลงปลูกคะน้า ที่ จ. กาญจนบุรี

<u>วิธีการ</u>

เวลาและสถานที่: เริ่มต้น ตุลาคม ๒๕๕๔ สิ้นสุด กันยายน ๒๕๕๖

สถานที่ดำเนินการทดลอง กุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ อ. ท่ามะกา และ อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี

<u>การดำเนินการ:</u>

ขั้นตอนที่ ๑: การทดสอบโดยวิธีพ่นด้วย cell suspension ในแปลงปลูก

ขั้นตอนที่ ๒: การทดสอบโดยวิธีพ่นด้วย สารชีวภัณฑ์ ในแปลงปลูก

ขั้นตอนที่ ๓: การทดสอบอัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ ในแปลงปลูก

๑. <u>ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูก</u>

<u>การเตรียมพืชและแปลงทดลอง</u> : เตรียมแปลงขนาดกว้าง ๑.๒ เมตร ยาว ๕ เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ ๘๐ ซม. หว่านเมล็ดคะน้า และถอนแยก จนคะน้ามีอายุ ๓๕ วัน

<u>การเตรียมแบคทีเรียและเชื้อราทดสอบ</u>: เลี้ยง *Bacillus* sp. ๖ ไอโซเลท ได้แก่ ๒๐W๔ ๒๐W๑ SA๖ ๑๗G๑๘ ๒๐W๑๒ และ ๒๐W๕ บนอาหาร PSA เป็นเวลา ๒ วัน นำมาทำเป็น cell suspensionโดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ๒๐ มล.ต่อ ๑ จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีความเข้มข้นประมาณ ๑๐^{๙} โคโลนี/มล. สำหรับเชื้อรา Ab เตรียมโดย เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา ๑๔ วัน จากนั้นนำมาทำเป็น cell suspension โดยใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับ *Bacillus* sp. ปรับความเข้มข้นให้ได้ประมาณ ๑๐^{๘} โคโลนี/มล.

<u>การดำเนินการทดลอง</u> : วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน ๔ ซ้ำ

<u>ฤดูที่ ๑</u> ทดสอบระหว่างเดือนธันวาคม ๒๕๕๓ – กุมภาพันธ์ ๒๕๕๔ มี ๙ กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ ๑ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๔

กรรมวิธีที่ ๒ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๑

กรรมวิธีที่ ๓ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท SA๖

กรรมวิธีที่ ๔ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๑๗G๑๘

กรรมวิธีที่ ๕ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๑๒

กรรมวิธีที่ ๖ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๕

กรรมวิธีที่ ๗ พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร กรรมวิธีที่ ๘ พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

กรรมวิธีที่ ๙ พ่นด้วย Ab (Control +)

<u>ฤดูที่ ๒</u> ทดสอบระหว่างเดือนมิถุนายน ๒๕๕๔ – สิงหาคม ๒๕๕๔ มี ๘ กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ ๑ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๔

กรรมวิธีที่ ๒ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๑๒

กรรมวิธีที่ ๓ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๑๑

กรรมวิธีที่ ๔ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๑๗G๑๘

กรรมวิธีที่ ๕ พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๕

กรรมวิธีที่ ๖ พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๗ พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control-)

กรรมวิธีที่ ๘ พ่นด้วย Ab (Control +)

โดยจะพ่น Bacillus sp. ก่อนพ่น Ab ๒ วัน และพ่นอีกครั้งหลังจากพ่น Ab ๒ วัน

<u>การพ่น</u> : พ่นด้วยถังพ่นธรรมดาชนิดอัดลม

<u>การตรวจผล</u> : ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบทั้งหมด โดยสุ่มต้นคะน้าจำนวน ๕๐ ต้น/ซ้ำ ตรวจดูใบคู่ที่ ๒ นับจากโคนต้น จำนวน ๔ ใบ/ต้น ที่ ๓, ๕ และ ๗ วันหลังการทดสอบ

๒. <u>ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก</u>

- ทดสอบระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม ๒๕๕๕

- การดำเนินการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ RCB มี ๘ กรรมวิธี ๔ ซ้ำประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ ๑ พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๑

กรรมวิธีที่ ๒ พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๔

กรรมวิธีที่ ๓ พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๒๐W๕

กรรมวิธีที่ ๔ พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท ๑๗G๑๘

กรรมวิธีที่ ๕ พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท

กรรมวิธีที่ ๖ พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๗ พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

กรรมวิธีที่ ๘ พ่นด้วย Ab (Control +)

ผสมปรุงแต่งสารชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ในรูปผง จำนวน ๕ ไอโซเลท โดยใช้ทัลคัมเป็นสารนำพา จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดสอบคะน้า ที่อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี โดยนำผงผลิตภัณฑ์ *Bacillus* sp. ละลายน้ำ อัตรา ๔๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตรปลูกเชื้อโดยวิธีพ่น โดยพ่นสารชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ก่อนและหลังการพ่นเชื้อราสาเหตุ *A. brassicicola* ๒ วัน

<u>การพ่น</u> : พ่นด้วยถังพ่นธรรมดาชนิดอัดลม

การตรวจผล : ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบและก้านใบทั้งหมด โดยสุ่มต้นคะน้าจำนวน ๕๐ ต้น/ซ้ำ ตรวจดูใบคู่ที่ ๒ นับจากโคนต้น จำนวน ๔ ใบ/ต้น ที่ ๓, ๕ และ ๗ วันหลังการทดสอบ

๓. ทดสอบอัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง *B. subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในระดับแปลงปลูก

- ทดสอบระหว่าง เดือน มกราคม – พฤษภาคม ๒๕๕๖

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี ๘ กรรมวิธี ๔ ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ ๑ ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตรา ๒๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๒ ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตรา ๓๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๓ ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตรา ๔๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๔ ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตรา ๕๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๕ ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตรา ๖๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๖ สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

กรรมวิธีที่ ๗ Control (+) พ่น เชื้อรา Ab อย่างเดียว

กรรมวิธีที่ ๘ Control (-) พ่นน้ำเปล่าอย่างเดียว

๓. เตรียมแปลงปลูกคะน้า ที่ อ. ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี จำนวน ๑๖ แปลง โดยมีขนาดแปลง เท่ากับ ๑.๕๐ x ๓๐ เมตร

๔. ปลูกคะน้าโดยวิธีหยอดเมล็ด จำนวน ๑๖ แปลง

๕. เมื่อคะน้าอายุได้ ๖๐ วัน (เนื่องจากสภาพอากาศที่ร้อนจัด ทำให้คะน้าไม่เจริญเติบโต จึงจำเป็นต้องใช้อายุคะน้าที่ ๖๐ วันแทนที่จะเป็น ๓๐ วัน) ทำการพ่นสารละลายชีวภัณฑ์ *B. Subtilis* ไอโซเลท ๒๐W๑ อัตราต่างๆ โดยพ่นก่อนการ ปลูกเชื้อรา Ab ๒๔ ชม. และ พ่นซ้ำอีกครั้ง หลังการปลูกเชื้อ Ab ๔๘ ชม.

๖. ตรวจผล โดยให้เป็นเปอร์เซนต์ของการเกิดโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบและต้นทั้งหมด โดยสุ่มคะน้าจำนวน ๒๕ ต้น/ซ้ำ จำนวน ๔ ใบ/ต้น

๘. ผลการทดลองและวิจารณ์:

๑. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในสภาพแปลงปลูก ฤดูที่ ๑ พบว่า ที่ ๓ และ๕ วัน หลังการทดสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดทุกกรรมวิธีค่อนข้างต่ำ ทำให้ไม่สามารถสรุปความแตกต่างในการควบคุมโรคของแต่ละกรรมวิธี แต่ที่ ๗ วัน หลังการทดสอบ พบว่า การพ่นด้วย *Bacillus* sp. ทั้ง ๖ ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb ๘๐% WP โดยไอโซเลท ๑๗G๑๘ ๒๐W๕ และ ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค (ตารางที่ ๑)

ในฤดูที่ ๒ หลังการทดสอบ ๓ วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท ๒๐W๔ ๒๐W๑๒ และ๒๐W๑๑ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำ กล่าวคือสามารถลดการเกิดโรคใบจุดบนคะน้าได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญ และเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วย mancozeb ๘๐% WP และกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab ที่ ๕ วันหลังการทดสอบ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท ๒๐W๔ และ๒๐W๑๑ มี

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab และกรรมวิธีที่พ่นด้วย mancozeb ๘๐% WP และที่ ๗ วันหลังการทดสอบ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท ๒๐W๔ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab และกรรมวิธีที่พ่นด้วยmancozeb ๘๐% WP (ตารางที่ ๒)

๒. ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในสภาพแปลงปลูก พบว่า หลังการทดสอบ ๗ วัน กรรมวิธีที่มีการพ่น *Bacillus* sp. ทั้ง ๕ ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. (C+) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการพ่น *Bacillus* sp. ๔ ไอโซเลทที่พบการเกิดโรคต่ำกว่า ๕๐ % คือ ๒๐W๑ ๒๐W๕ ๑๗G๑๘ และ ๒๐W๔ โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคเท่ากับ ๔๑.๒๖ ๔๓.๕๕ ๔๓.๘๘ และ ๔๘.๕๒ ตามลำดับ โดยไอโซเลท ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดโดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ ๓๒.๘๘% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb ๘๐% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ ๓)

๓. ทดสอบอัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง *B. subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในระดับแปลงปลูก

ผลการทดสอบ พบว่า อัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา ๒๐-๓๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb ๘๐% WP และอัตรา ๔๐ – ๕๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร (ตารางที่ ๔)

ตารางที่ ๑ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วย *Bacillus* sp. ที่ ๓ ๕ และ ๗ วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก ฤดูที่ ๑ (เดือนธันวาคม ๒๕๕๓ – กุมภาพันธ์ ๒๕๕๔)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)		
	๓ DAI[๑/]	๕ DAI[๑/]	๗ DAI[๑/]
๒๐W๔	๓.๘๒	๒.๗๙	๑.๓๐ c
๒๐W๑	๒.๑๐	๒.๐๕	๐.๘๗ c
SA๖	๓.๘๙	๑.๙๒	๕.๒๐ b
๑๗G๑๘	๒.๓๐	๒.๖๑	๐.๓๖ c
๒๐W๑๒	๔.๒๙	๓.๙๖	๑.๖๖ c
๒๐W๕	๖.๔๓	๔.๒๘	๐.๕๘ c
mancozeb ๘๐% WP	๖.๑๒	๙.๕๐	๑.๙๔ c
Control (+)	๙.๗๓	๗.๒๕	๑๐.๕๗a
Control (-)	๐.๐๐	๐.๐๐	๐.๐๐ c
CV =	-	-	๗๗.๑๘

[๑/] Days after inoculation = ๓ ๕ และ๗ วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ ๒ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วย *Bacillus* sp. ที่ ๓ ๕ และ ๗ วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก ฤดูที่ ๒ (เดือนมิถุนายน ๒๕๕๔ – สิงหาคม ๒๕๕๔)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)		
	๓DAI[๑/]	๕DAI[๑/]	๗DAI[๑/]
๒๐W๔	๒.๙๑ c	๒.๗๙ d	๑.๒๓ d
๒๐W๑๒	๖.๔๔ bc	๑๐.๓๘ bc	๑๒.๘๖ b
๒๐W๑	๒.๗๐ c	๖.๒๓ cd	๘.๗๒ bc
๑๗G๑๘	๑๐.๘๒ ab	๑๕.๒๔ ab	๑๔.๐๒ b
C-	๐.๐๐ c	๐.๑๒ d	๐.๑๔ d
๒๐W๕	๑๒.๗๐ ab	๑๔.๖๐ ab	๒๓.๙๓ a
mancozeb ๘๐% WP	๑.๔๐ c	๑.๙๐ d	๒.๔๒ cd
Control (+)	๑๓.๓๖ a	๒๑.๖๘ a	๒๓.๕๐ a
CV =	๖๘.๓๓	๕๐.๗๓	๔๐.๖๐

[๑/] Days after inoculation = ๓ ๕ และ๗ วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ ๓ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ที่ ๗ วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)
	๗ DAI[๑/]
Control (-)	๐.๐๐e
mancozeb ๘๐% WP	๒๓.๓๗d
๒๐W๑	๔๑.๒๖c
๒๐W๕	๔๓.๕๕c
๑๗G๑๘	๔๓.๘๘c
๒๐W๔	๔๘.๕๒c
๒๐W๑๒	๖๑.๗๐b
Control (+)	๗๙.๗๐a
CV (%)	๑๑.๒๑

[๑/] Days after inoculation = ๗ วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ ๔ เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ที่ ๗ วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก

อัตรา Bs (กรัม/น้ำ๒๐ลิตร)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)
	๗ DAI[๑/]

T๑	๗.๗๙ b
T๒	๕.๗๖ b
T๓	๑.๘๘ c
T๔	๐.๙๑ c
T๕	๕.๘๕ b
T๖	๗.๒๙ b
T๗	๒๔.๐๐ a
T๘	๐.๔๐ c
CV (%)	๓๖.๙๒

๑/ Days after inoculation = ๗ วัน หลังการปลูกเชื้อ

๙. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ:

การพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* (Ab) สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ๖ ไอโซเลท ในระดับแปลงปลูกที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ๒ ฤดู ในช่วงที่สภาพอากาศมีความเย็นสูง พบว่า ไอโซเลท ๑๗G๑๘ ๒๐W๕ และ ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb ๘๐% WP โดย

การพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในช่วงฤดูฝน พบว่า ไอโซเลท ๒๐W๔ ๒๐W๑๒ และ ๒๐W๑๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. โดยไอโซเลท ๒๐W๔ มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP

การพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงของ *Bacillus* sp. ๕ ไอโซเลท ได้แก่ ๒๐W๔ ๒๐W๑ ๒๐W๕ ๒๐W๑๒ และ ๑๗G๑๘ พบว่า ทั้ง ๕ ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลท ๒๐W๑ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุด โดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ ๓๒.๘๘% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร mancozeb ๘๐% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดสอบอัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท ๒๐W๑ พบว่า อัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา ๒๐ - ๓๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb ๘๐% WP อัตรา ๔๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร และอัตรา ๔๐ – ๕๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb ๘๐% WP อัตราดังกล่าว

๑๐. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์:

ภาคเอกชน นักวิชาการ นักส่งเสริมที่เกี่ยวข้อง สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปปรับใช้ หรือพัฒนาต่อยอดเป็นสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ในระดับแปลงปลูก เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีในอนาคต ต่อไป

๑๑. คำขอบคุณ (ถ้ามี):

๑๒. เอกสารอ้างอิง:

นิรนาม (ไม่ระบุปี พ.ศ.) . www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch๕๒/๐๔-plant/.../plant_๐๐.html สืบค้นเมื่อ ๒๘ สิงหาคม ๒๕๕๓

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ , อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. ๒๕๔๘. การใช้เชื้อ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า ๙๐-๑๐๕. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ๒๕๔๘. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. ๒๕๕๐. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า ๒๑๐-๒๑๑.*ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ (บทคัดย่อ) ครั้งที่ ๘, ๒๐-๒๒ พฤศจิกายน ๒๕๕๐ ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน องเมือง จ. พิษณุโลก

พรพิมล อธิปัญญาคม. ๒๕๕๒. โรคใบจุด.หน้า ๙๓-๙๔. *ใน* คู่มือโรคผัก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วรรณวิไล อินทนู จิระเดช แจ่มสว่าง และวราภรณ์ สุทธิสา. ๒๕๔๘. การควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ด้วยชีววิธีด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. หน้า ๑๒๓-๑๓๐. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ ๔๐ สาขาพืช.

๑๓. ภาคผนวก:

-