รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์

2. โครงการวิจัย : วิจัยสำรวจและศึกษาศักยภาพชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : **การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดพริกที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria***

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : **Screening and efficacy test of antagonistic bacteria for control bacterial leaf spot of pepper cause by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria***

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : ดารุณี ปุญญพิทักษ์ สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน : กาญจนา ศรีไม้ สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ธารทิพ ภาสบุตร สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ : การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดพริก แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากใบพริกและดินบริเวณรอบราก จากแปลงเกษตรกรที่ปลูกพริก ในจังหวัด กาญจนบุรี เชียงใหม่ สกลนนคร ขอนแก่น และชัยภูมิ ได้เชื้อจำนวน 165 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ด้วยวิธี streak inoculated และ paper disc diffusion method พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ BSP3 BSP19 BSP24 BSP123 BSP136 และ 141 จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 3 ลำดับ คือ BSP3 BSP19 และ BSP24 มาทดสอบ

กรมวิชาการเกษตร

ประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบจุดพริกในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลท BSP19 และ BSP24 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดี ซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้สารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP แต่แตกต่างจากการพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ(กรรมวิธีควบคุม)

: Screening and efficacy test of antagonistic bacteria for control bacterial leaf spot of pepper cause by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. One hundred and sixty five antagonistic bacteria were isolated from leaves and rhizosphere soil of pepper fields in Kanchanaburi Chiang Mai Sakon Nakhon Khon Kaen and Chaiyaphum province. The antagonistic bacteria were screened for antagonistic activity by streak inoculated and paper disc diffusion method against *X. axonopodi* pv. *vesicatoria*. Five isolates having antagonistic activity such as BSP3 BSP19 BSP24 BSP123 BSP136 and 141. The three most effective antagonistic bacteria, BSP3, BSP19 and BSP24 were tested for disease control in greenhouse. The results showed that BSP19 and BSP24 were promising in disease control.

6. **คำนำ** : พริก (Chili, *Capsicum* spp.) เป็นพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ของประเทศและปลูกได้ตลอดทั้งปี แต่การปลูกพริกมักประสบปัญหาการระบาดของโรคพืชหลายชนิด ซึ่งโรคใบจุดแบคทีเรีย (bacterial leaf แสดงอาการspot) มีเชื้อสาเหตุของโรคคือ *Xanthomonas axonopodis* (syn. *campestris*) pv. *vesicatoria* ถือเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งที่ส่งผลต่อผลผลิตและคุณภาพของพริก เมื่อพริกถูกเชื้อเข้าทำลาย พบว่า ใบพริกมีจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ แล้วขยายใหญ่เป็นวงกลม ขอบแผลมีสีเหลือง (halo) ต่อมาแผลจะลามต่อกันขยายใหญ่ และลุกลามอย่างรวดเร็ว ทำให้ใบร่วงทั้งต้น ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ (สรัญญา, 2542; สุชีลา,2549) การควบคุมโรคใบจุดแบคทีเรียนิยมใช้สารเคมีกลุ่มสารประกอบคอปเปอร์ซึ่งการใช้สารเคมีดังกล่าว ส่งผลให้เชื้อสาเหตุสามารถปรับตัวต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดโรคพืช (ณัฏฐิมา, 2534 ; Stall และคณะ,1986) จึงจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณสารป้องกันกำจัดโรค และพบสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ดังนั้นการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีคุณสมบัติหลายประการที่สามารถควบคุมโรคได้ เช่น การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช ทำให้โรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ สามารถผลิตสารพิษหรือสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค ชักนำให้พืชมีภูมิต้านทานโรค (นิพนธ์,2546) มีการรายงานว่า *Pseudomonas* และ *Bacillus* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง และควบคุมเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* sp. (ชลิดาและนิพนธ์,2544; Salerno and Sagardoy, 2003; Byme *et al*.,2005) ดังนั้น

กรมวิชาการเกษตร

วัตถุประสงค์ในการทดลองนี้ เพื่อทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ ยั้บยั้งเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* ในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรค นำไปศึกษาในขั้นตอนทดสอบสภาพแปลงทดลอง และเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรในอนาคนต่อไป

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. พริก
2. เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*
3. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
4. อาหารที่ใช้ในการทดสอบและจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
5. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกเชื้อเชื้อแบคทีเรีย
6. วัสดุ และ สารเคมี ที่ใช้ในการเกษตร เช่น ดินปลูก ปุ๋ย สารกำจัดแมลง และ สารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP

- วิธีการ

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคและแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดินและใบพริก

1.1 แยกเชื้อสาเหตุโรค : ตัดใบพริกบริเวณที่แสดงอาการใบจุด ขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร นำมาแช่ใน 1 เปอร์เซ็นต์ sodium hypochlorite ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง นำมาบดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อแตะที่ตัวอย่าง และนำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24- 48 ชั่วโมง ทำการเลือกโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะนูนเยิ้ม สีเหลือง นำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA จนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อไว้ทดลองในขั้นต่อไป

1.2 แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินรอบต้นพริก โดยวิธี soil dilution plate method : นำตัวอย่างดิน จำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้ดินกระจายตัว และ ทำการเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 10^{-1}-10^{-6} จากนั้นดูดสารละลายที่ได้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เกลี่ยบนอาหาร NGA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 -48 ชั่วโมง แล้วคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียโคโลนีเดี่ยว ลงบนอาหาร NGA ซ้ำ 2 - 3 ครั้ง ได้เชื้อบริสุทธิ์ เพื่อใช้ทดลองต่อไป

1.3 แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากใบพริก โดยวิธี tissue transplanting : ตัดใบพริก ขนาดประมาณ 3 x 3 มิลลิเมตร นำมาแช่ใน 1 เปอร์เซ็นต์ sodium hypochlorite ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้ง จากนั้นนำใบพริกที่ตัดได้วางลงบนอาหาร NGA จำนวน 4 ชิ้นต่อจานอาหารเลลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 -48 ชั่วโมง แล้วใช้ลูปแตะเชื้อที่เชื้อแบคทีเรียที่ขึ้นรอบใบพริก นำไปเขี่ยบนอาหาร NGA เลือกเชื้อแบคทีเรียโคโลนีเดี่ยว เลี้ยงซ้ำบนอาหาร NGA จนได้เชื้อบริสุทธิ์

ศูนย์วิทยาการเกษตร

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรีย 2 วิธี คือ streak inoculated และ paper disc diffusion

วิธี streak inoculated ดัดแปลงจาก ชลิดา และ นิพนธ์ (2544) โดยเลี้ยงเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xac) จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทจากกาญจนบุรี เชียงใหม่ และ สกลนคร แล้วเจือจางเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ให้มีค่าดูดซับคลื่นแสง optical density (O.D.) ที่ 600A เท่ากับ 0.2 จะได้เชื้อมีความเข้มข้น ประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูด เซลล์สารแขวนลอยของเชื้อ Xac ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมลงในหลอดอาหาร NGA ที่หลอม ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เททับลงบนจานอาหาร NGA ที่แข็งตัวดีแล้ว ทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัวและผิวหน้าแห้ง ย้ายเชื้อแบทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ทุกไอโซเลท ขีดเชื้อเป็นรูปกากบาท ลงบนอาหารที่ผสมเชื้อสาเหตุโรค โดย 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทดสอบเชื้อปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจการเกิดบริเวณใสของเชื้อ

วิธี paper disc diffusion ·นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีสามารถยับยั้งเชื้อ Xac จากการทดสอบด้วยวิธี streak inoculated ·มาเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NGA เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และปรับความเข้มข้นเชื้อให้มีความเข้มข้น ประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร หยดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แต่ละไอโซเลทลงบนกระดาษกรอง เบอร์ 1 (paper disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แผ่นละ 10 ไมโครลิตร จากนั้นใช้ปากคีบลนไฟฆ่าเชื้อ คีบกระดาษกรองวางลงบนจานอาหารที่ผสมมเชื้อ Xac ซึ่งเตรียมไว้แล้วจำนวน 4 จุด ต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางแผ่น กระดาษกรองที่หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ตรวจการเกิดบริเวณใสรอบกระดาษกรอง

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดแบคทีเรีย พริก ในสภาพเรือนทดลอง

การวางแผนการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ต้น มี 5 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP 3
กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP 19
กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP 24
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (control)

พ่นเชื้อ Xac บนใบพริกให้ทั่วต้น จากนั้นนำถุงพลาสติกคลุมต้นคะน้า เพื่อเพิ่มความชื้น โดยคลุมไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำถุงพลาสติกดังกล่าวออก แล้วทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่

กรมวิชาการเกษตร

คัดเลือกไว้ จำนวน 3 ไอโซเลท สารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตามกรรมวิธีดังกล่าว ทำการพ่นทุกๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง สังเกตอาการ และประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคทุกกรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP และกรรมวิธีใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

บันทึกผลการทดลอง ประเมินจากระดับความรุนแรงของโรค โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่เกิดโรคใบจุด
ระดับ 1 = เกิดโรคใบจุด 1-10% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 2 = เกิดโรคใบจุด 11-20% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 3 = เกิดโรคใบจุด 21-30% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 4 = เกิดโรคใบจุด 31-40% ของพื้นที่ใบ
ระดับ 5 = เกิดโรคใบจุด 41-50% ของพื้นที่ใบ

การวิเคราะห์ข้อมูล นำค่าการประเมินความรุนแรงของโรคที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และทำการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีทางสถิติ

4. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จำแนกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูง 3 อันดับ ในยับยั้งเชื้อ Xac (จากข้อ 2) นำแบคทีเรียปฏิปักษ์เลี่ยงบนอาหาร NGA ศึกษาลักษณะและรูปร่าง ของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการย้อมแกรม และการย้อมสปอร์ ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB (BioMerieux, France)

- เวลาและสถานที่ - เริ่มต้น ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2563
ห้องปฏิบัติการ iและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. **ผลการทดลองและวิจารณ์** : การแยกเชื้อ Xac ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดพริก จากจังหวัดกาญจนบุรี เชียงใหม่ และสกลนคร สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด จำนวน 22 ไอโซเลท และคัดเลือกเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xac) จากทั้ง 3 จังหวัด จังหวัดละ 1 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์

การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดิน และใบพริก สามารถแยกเชื้อแบคทเรียจากดินได้จำนวน 165 ไอโซเลท และ จากใบพริก ได้จำนวน 20 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมดมาทดสอบประสิทธิภาพ ด้วยวิธี streak inoculated พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินสามารถยับยั้งเชื้อ Xac ได้จำนวน 68 ไอโซเลท ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากใบพริกไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Xac และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพมาทดสอบต่อด้วยวิธี paper disc diffusion

กรมวิชาการเกษตร

พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการจิญเติบโตของเชื้อ Xac ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้แก่ BSP3 BSP19 BSP24 BSP123 BSP136 และ 141 ซึ่งมีการยับยั้งที่แตกต่างกัน โดยมีความกว้างบริเวณใส มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 10.08 - 16.3 มิลลิเมตร (Table 1) สอดคล้องกับการทดลองของ Mirik *et al.* (2008) ซึ่งพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท ได้แก่ M1-3, M3-1 และ H8-8 ที่แยกได้จากดินรอบรากพริก แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Xac โดยให้ความกว้างบริเวณใส 21.0 27.0 และ 5.0 mm ตามลำดับ

เมื่อนำแบคทีเรียแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Xac สาเหตุโรคใบจุดพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ไอโซเลท มาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP จำนวน 4 ครั้ง ทุก 7 วัน ผลการทดลอง พบว่า หลังการพ่นครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP24 และ BSP 19 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 16.25 และ 18.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นด้วยสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ากรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP24 BSP19 และกรรมวิธีพ่นด้วยสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WPแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นน้ำกลั่นฆ่า(กรรมวิธีควบคุม) ที่แสดงอาการเกิดโรค เท่ากับ 22.50 เปอร์เซ็นต์ (Table2) หลังการพ่นครั้งที่ 3 และ 4 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP24 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 31.25 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BSP19 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 33.75 และ 58.75 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีพ่นด้วยสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 28.75 และ 53.75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 36.25 และ 62.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP24 BSP19 กรรมวิธีพ่นด้วยสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP และ กรรมวิธีที่พ่นน้ำกลั่นฆ่า(กรรมวิธีควบคุม) ที่แสดงอาการเกิดโรค เท่ากับ 45 และ 71.25 เปอร์เซ็นต์ (Table2) สอดคล้องกับการทดลองของ Mirik *et al.* (2008) นำเชื้อ *Bacillus* 3 ไอโซเลท ได้แก่ M1-3, M3-1 และ H8-8 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากพริกมาควบคุมเชื้อ *X. axonopodis pv. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดพริก ในสภาพเรือนทดลอง โดยการพ่นเชื้อ *Bacillus* แต่ละ ไอโซเลท และนำเชื้อ *Bacillus* มาผสมกัน พบว่า เชื้อ *Bacillus* สามารถลดการเกิดโรคใบจุดแบคทีเรียได้ 11- 62 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบให้องปฏิบัติการ จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP19และ BSP3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจิญของเชื้อ Xac ได้ดีกว่า ไอโซเลท BSP 24 แต่เมื่อนำมาทดสอบในสภาพเรือนทดลองกลับ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP24 มีความสามารถในการควบคุมโรคได้ดีกว่าไอโซเลท BSP19 และ BSP3 อาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BSP 24 มีความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงในสภาพเรือนทดลองสอดคล้องกับรายงานนิพนธ์ (2546) ที่กล่าวว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บางชนิดมีความสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมบางสภาวะได้ดีกว่าชนิดอื่น

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้แก่ BSP3 BSP19 และ BSP24 มาจำแนกคุณสมบัติการย้อมแกรม พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลทติดสีม่วงของ crystal violet แสดงว่าเป็น แบคทีเรียแกรมบวก สปอร์มีลักษณะเป็น rod shape และเมื่อนำมาทดสอบด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api® 50 CHB (BioMerieux, France) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท คือเชื้อ *Bacillus subtilis*

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ : ผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 165 ไอโซเลท ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพยั้บยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ได้แก่ BSP3 BSP19 BSP24 BSP123 BSP136 และ 141 จากนั้นคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 3 ลำดับ คือ BSP3 BSP19 และ BSP24 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลที่มีประสิทธิภาพ คือ BSP19 และ BPS 24 เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท มาจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ เชื้อ *Bacillus subtilis*

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

1. ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. axonopodis pv. vesicator* สาเหตุโรคใบจุดพริก
2. ได้วิธีการควบคุมและการป้องกันกำจัดโรคใบจุดพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพ

11. เอกสารอ้างอิง :

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2544. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris pathovars*. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 39 สาขาพืช 5-7 กุมภาพันธ์. 2554. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 419-423.

ณัฏฐิมา บุญวัฒน์. 2534. บทบาทของพลาสมิดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2546. การควบคุมโรคแบคทีเรียของพืชโดยชีววิธีในการควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 55-88.

สุชีลา เตชะวงค์เสถียร. 2549. พริก การผลิต การจัดการและ การปรับปรุงพันธุ์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

กรมวิชาการเกษตร

สรัญญา อมโร. 2542. การทดสอบพันธุ์พริกต้านทานดรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidage) Dye. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 23 หน้า.

Byme, J. M.; Cuppels, D. A.; Louws, F. J.; Miller, S. A.; Jones, J. B. and Wilson, M. (2005). Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. Biol. Cont., 32 (3):408:418.

Mirik, M.; Aysan, Y. and Cinar, O. 2008. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* Strains. Turk. J. Agric. 32: 381-390.

Salerno, C. M. and Sagador, M. A. 2003. Short communication: Antagonistic activity by *Bacillus subtilis* againts *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* under controlled condition. Spanish J. of Agric. Res. 1(2) : 55-58.

Stall, R.E., Loschke, D.C. and Jones, J.B. 1986. Linkage of copper resistance and avirulence loci on a self-transmissable plasmid *in Xanthomonas campestris* pv. *vesicataria.* Phytopathology. 76 : 240-243.

Monteiro, L., R.D.L.R. Mariano. and A.M. Souto-Maior. 2005. Antagonism of *Bacillus* spp. against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48(1): 23-29.

กรมวิชาการเกษตร

12. ภาคผนวก

Table1 Clear zone of antagonistic bacterial isolate with efficacy inhibition of *X. axonopodis* pv. *vesicatoria (*Xac)

Antagonistic bacteria	**Clear zone (mm.)**		
	Xac isolate Kanchanaburi	Xac isolate Chiang mai	Xac isolate Sakon nakhon
1. BSP 3	15.74	13.66	14.80
2. BSP 19	16.30	15.60	12.66
3. BSP 24	14.78	13.84	12.84
4. BSP 136	13.94	12.60	12.44
5. BSP 141	12.70	10.08	10.24

Table 2 Effect of spraying antagonistic bacterial solates on on disease severity in greenhouse

Treatment	Disease Index (%)			
	1ST	2nd	3th	4th
Antagonistic bacterial isolate BSP 3	0.00	20.00bc 1/	36.25b	62.50b
Antagonistic bacterial isolate BSP 19	0.00	18.75abc	33.75ab	58.75ab
Antagonistic bacterial isolate BSP 24	0.00	16.25ab	31.25ab	56.25ab
Copper hydroxide 77% WP	0.00	15.00a	28.75a	53.75a
Control	0.00	22.50c	45.00c	71.25c
CV (%)		17.79	13.30	7.98

1/ Means with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

กรมวิชาการเกษตร