การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนดาโดยชีววิธี

Biological control for bacterial leaf spot of *Vanda* sp.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1] สุรีย์พร บัวอาจ[1]

อัจฉรา พยัพพานนท์[1] ดวงพร อมัตรัตนะ[2]

[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, [2]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

แยกเก็บแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณผิวใบ ผิวราก แบคทีเรียที่เจริญในท่อลำเลียงของกล้วยไม้และหน้าวัว แบคทีเรียจาก culture collections จำนวน 130 ไอโซเลท และเก็บน้ำสกัดจากเห็ดตีนแรด 5 สายพันธุ์จำนวน 20 ตัวอย่าง ทดสอบคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์และสารสกัดเห็ดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 2 ไอโซเลท คือ P285 และ P391 ด้วยวิธี paper disc diffusion พบความผันแปรของปฏิกิริยาต่อไอโซเลทของเชื้อสาเหตุโรค ค่าเฉลี่ยรัศมีส่วนใสบริเวณยับยั้ง 0-4.4 มม. ปฏิกิริยาการยับยั้งของสารสกัดเห็ดตีนแรด 1 ตัวอย่าง รัศมี 1.2 มม. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ PA12, NA17, KA18, KA19, KA20, NA39, NA40, NA41 และ Pho38 ทดสอบปฏิกิริยายับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรค 6 ไอโซเลท ได้แก่ P 206, P 236, P244, P285, P377 และ P391 แบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท คือ PA12, NA17 และ NA40 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ทั้ง 6 ไอโซเลท โดยมีรัศมีของบริเวณยับยั้งแตกต่างกัน พบปฏิกิริยาการยับยั้งลักษณะเป็นวงใส วงขุ่นกว้าง มีเชื้อเจริญโดยรอบ

ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคบนกล้วยไม้สกุลแวนดาลูกผสม อายุ 4 เดือน โดยพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ได้แก่ NA18, KA28, KA33, KA34, KA35 และชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำเปล่า ผลการทดสอบพบว่าในระยะแรกของการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ และผงอัดเม็ดฟู่ให้ผลการควบคุมโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ แต่หลังจากพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคตามกรรมวิธี 5 ครั้ง พบว่าทุกกรรมวิธีให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการพ่นด้วยน้ำเปล่า โดยกรรมวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA28 กล้วยไม้แสดงอาการโรคต่ำสุด (4.1) รองมาคือเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 (7.5) กรรมวิธีการพ่นชีวภัณฑ์แบคทีเรียไอโซเลท KA33 (8.7) ให้ผลการควบคุมโรคใกล้เคียงกับการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KA34 (8.3) และ KA35 (8.8) โดยการทดลองเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 14.7

รหัสการทดลอง 01-15-49-01-01-02-03-49

คำนำ

กล้วยไม้สกุลแวนดา เป็นกล้วยไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกเป็นไม้ประดับ ทั้งในรูปของไม้ตัดดอก และส่งขายทั้งต้น ประเทศไทยนับเป็นผู้นำในการปรับปรุงพันธุ์แวนดาต่อจากประเทศฮาวายและสิงคโปร์ เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยมีลูกผสมที่มีชื่อเสียงมากมาย ในปี 2550 พบการระบาดของโรคใบจุดแบคทีเรียในกล้วยไม้สกุลแวนดา อาการแผลจุด มีขอบสีเหลือง รอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ เข้าทำลายทำความเสียหายต่อกล้วยไม้สกุลแวนดา ได้ในทุกระยะการเจริญ ปิยรัตน์และจงวัฒนา (2552) จำแนกสาเหตุโรค เป็นแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* จากรายงานของ Miller (1990) ถึงการเกิดโรค bacterial brown spot จากแบคทีเรีย *Pseudomonas cattleyae* (ชื่อใหม่ *A. avenae* supsp. *cattleyae)* ในกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิสแคทลียา Cypripedium สกุลหวาย ออนซิเดียม และแวนดา โดยมีอาการเนื้อเยื่อนุ่ม ช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาเนื้อเยื่อยุบตัวเป็นแผลสีน้ำตาลถึงดำ อาการโรคดังกล่าวสามารถทำให้ต้นกล้าฟาแลนอปซิสตายได้ พบการทำลายพืชได้ทุกส่วน และติดไปกับการกระเด็นของน้ำ ปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคพืชจากแบคทีเรีย แต่จากความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียในประเทศไทย การควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธภาพ เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยควบคุมการเกิดโรคได้ อีกทั้งสภาพการปลูกกล้วยไม้ในโรงเรือน ภายใต้หลังคาพรางแสงและมีความชื้นสูง เป็นสภาพที่ช่วยให้แบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถเจริญอยู่ได้ โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์จะช่วยควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างยั่งยืน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรวมรวมและคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดกล้วยไม้ เพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้

เก็บตัวอย่างอาการแผลจุดบนกล้วยไม้สกุลแวนดา และลูกผสมแวนดา ตัดชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการแผลจุดเหลืองขอบแผลช้ำ เลือกตัดเนื้อเยื่อพืชบริเวณที่มีอาการโรคเชื่อมต่อกับส่วนที่ไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5 x 0.5 มิลลิเมตร แช่ชิ้นส่วนพืชในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืช วางบนหยดน้ำ 50 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วใช้ลูปที่ลนไฟฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำบดตัวอย่าง นำมาลาก (streak) บนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก บ่มเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลวเพื่อการศึกษาต่อไป

2. การแยกเก็บเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญในลำต้นหรือใบกล้วยไม้และหน้าวัว โดยเลือกตัวอย่างต้นกล้วยไม้และหน้าวัวที่เจริญเติบโตดี แข็งแรง และปลอดโรค ตัดชิ้นส่วนของบริเวณที่จะแยกเชื้อ (ราก หรือใบ) แช่ในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที และสำหรับการแยกเชื้อที่เจริญในลำต้นและใบ ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวโดยการพ่นแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง นำมาสับหรือบดในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ แช่ทิ้งไว้ เป็นเวลา 3-5 นาที ใช้ลูปจุ่มแอลกอฮอล์บนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหารสังเคราะห์ NGA เก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีสีขาวขุ่นขอบไม่เรียบ แกรมบวก นำไปเลี้ยงให้ได้แบคทีเรียบริสุทธิ์ บนอาหาร NGA ตรวจดูความบริสุทธิ์ของเชื้อ กำหนดรหัส เก็บเชื้อลงน้ำ และหลอดอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลว เพื่อใช้ในการทดสอบคัดเลือกเชื้อต่อไป

3. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี paper disc diffusion โดยใช้แบคทีเรียที่แยกเก็บได้ และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากศูนย์เก็บเชื้อ Culture collections กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช รวมทั้งสิ้น 130 ไอโซเลท

การเตรียมเชื้อ เลี้ยงแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดกล้วยไม้ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ที่แยกได้จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ต่างกัน และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เก็บรวมรวมไว้ทดสอบ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมอาหารผสมเชื้อสาเหตุโรค โดยนำแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* เตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ (ใช้เชื้อแบคทีเรีย 9 ลูปละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มล.) จากนั้นใช้ไปเปตดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อ 5 มล. ใส่ลงในอาหาร NGA ปริมาตร 200 มล. (ที่หลอมแล้วทิ้งไว้ให้อุ่น ประมาณ 45 องศาเซลเซียส) เขย่าผสมให้เข้ากันเบา ๆ แล้วเททับบนจานอาหาร NGA ที่เทอาหารรองพื้นไว้บาง ๆ เททับแล้วทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง (ประมาณ 2-3 ชั่วโมง) จากนั้นเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยขูดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท 1 ลูปเต็มละลายในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 1 มล. จากนั้นนำมาทดสอบคัดเลือกเชื้อโดยหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทบนกระดาษตาปลา (เตรียมจากกระดาษกรอง whatman no. 1 วางซ้อนกัน 2 ชั้น แล้วตัดด้วยที่เจาะกระดาษ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาทดสอบ) หยดเชื้อปริมาตร 7 ไมโครลิตรต่อแผ่น (เปียกชุ่มแต่ไม่เยิ้ม) จากนั้นใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อหยิบกระดาษที่หยดเซลล์แบคทีเรียแต่ละไอโซเลทวางบนผิวหน้าอาหารผสมเชื้อ จำนวน 4 จุดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางกระดาษที่หยดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นการทดลองควบคุม เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ตรวจผลหลังการทดสอบ 24, 48, 72 ชั่วโมงและ 7 วัน โดยวัดความกว้างเส้นรัศมีบริเวณส่วนใส (clear zone)

4. คัดเลือกสารสกัดเห็ดตีนแรดในการควบคุมแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae*

การเตรียมสารสกัดเห็ดตีนแรด โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรด (ไอโซเลทลพบุรี อิงคศรี และศูนย์เชื้อ) ในอาหารเหลว บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1 เดือน ได้น้ำสกัดที่มีสีเหลืองอมน้ำตาล ดูดน้ำส่วนใสที่ได้ นำมาทดสอบคัดเลือกประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค ด้วยวิธี paper disc diffusion เช่นเดียวกับการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ และได้ทดสอบเบื้องต้นการใช้สารสกัดเห็ดโอดีมาน (ได้รับความอนุเคราะห์น้ำสกัดจาก คุณพจนา ตระกูลสุขรัตน์ กลุ่มวิจัยโรคพืช) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค เช่นเดียวกับกรรมวิธีข้างต้น บ่มจานเลี้ยงเชื้อ และตรวจวัดความกว้างรัศมีบริเวณส่วนใส

5. การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ในรูปแบบผงอัดเม็ดฟู่

<u>การเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์</u> คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 บนอาหาร NGA บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปขูดเก็บเซลล์ของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร เพื่อใช้เตรียมเป็นชีวภัณฑ์

<u>พัฒนาชีวภัณฑ์เม็ดฟองฟู่</u> การพัฒนาชีวภัณฑ์ได้พัฒนาจากของรูปแบบชีวภัณฑ์บำบัดน้ำเสีย ทดสอบโดยการดัดแปลงปรับสูตรของส่วนประกอบชีวภัณฑ์ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ เซลล์ของแบคทีเรีย สารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู่ สารหล่อลื่น และสารกันติด แล้วนำมาอัดเป็นเม็ดด้วยแม่พิมพ์รูปสี่เหลี่ยม นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นสุ่มชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ จำนวน 3 เม็ด นำมาทดสอบการละลายในบิกเกอร์แก้วที่ใส่น้ำ 50 มิลลิลิตร จับเวลาในการละลาย สังเกตความใสของเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ได้ แล้วนำไปเจือจาง เพื่อตรวจนับปริมาณของแบคทีเรียปฏิปักษ์

6. ทดสอบการควบคุมโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้ในสภาพโรงเรือน

เตรียมพืชทดสอบ โดยใช้ต้นกล้วยไม้สกุลแวนดาพันธุ์ลูกผสม อายุประมาณ 4 เดือน มีใบประมาณ 6-8 ใบต่อต้น ทดสอบภายในโรงเรือนหลังคาซาแลนสีดำ ใช้ถุงพลาสติกคลุมระหว่างกรรมวิธีและซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น พ่นสารตามกรรมวิธีทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 ครั้ง ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 1 ครั้ง โดยการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม หลังการพ่นตามกรรมวิธี 2 ครั้ง ทดสอบการควบคุมโรคในระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงตุลาคม 2553

กรรมวิธีที่1เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลต KA 33

กรรมวิธีที่2 เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลต NA 18

กรรมวิธีที่3 เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลต KA 35

กรรมวิธีที่4 เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลต KA 28

กรรมวิธีที่5 เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลต KA 34

กรรมวิธีที่6 ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลต KA 33

กรรมวิธีที่7 กรรมวิธีเปรียบเทียบ พ่นน้ำเปล่า

การเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ (กรรมวิธีที่ 1-5) เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33, NA18, KA35, KA28 และ KA34 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อในตู้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml (แบคทีเรีย 1 จานเลี้ยงเชื้อต่อน้ำ 300 มล.)

เตรียมชีวภัณฑ์ โดยละลายผงอัดเม็ดฟู่ในน้ำ อัตราส่วน 1 เม็ด ต่อน้ำ 300 มล.

แบคทีเรียสาเหตุโรคที่ใช้ในการทดลอง ไอโซเลท P285 เตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อจากแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหาร NGA อายุ 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีประมาณ 10^8 cfu/ml ใช้ในการปลูกเชื้อระหว่างการทดสอบ

บันทึกผลการทดลอง โดยนับต้นที่แสดงอาการของโรค และนับจำนวนแผลจุดที่พบบนใบ เมื่อเริ่มพบการเกิดโรค รวม 4 ครั้ง หลังการทดลอง 1 เดือน กล้วยไม้เริ่มแสดงอาการโรค

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้

โรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้สกุลแวนดา ลักษณะอาการแผลจุดเล็กสีครีมอมเหลืองหรือแผลจุดสีเขียวอ่อน กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่ยุบตัวเป็นแอ่ง ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม และวงนอกสุดล้อมรอบด้วย halo (ภาพที่ 1) โดยมากพบอาการโรคบริเวณใบยอดหรือใบอ่อน และพบอาการแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลลักษณะเป็นวงสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วย halo สีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร อาการแผลจะมีขนาดใกล้เคียงกันทั้งด้านหน้าและด้านหลังใบ สีของแผลจุดของบริเวณแผลของใบกล้วยไม้ที่ถูกเชื้อเข้าทำลายมีความแตกต่างกัน (ปิยรัตน์, 2551) อาจเนื่องจากปฏิกิริยาการตอบสนองของพืช (Defense mechanism) เพราะพันธุกรรมของกล้วยไม้ มีการพัฒนาพันธุ์จากการผสมข้ามกับกล้วยไม้ต่างสกุลกันหลายสายพันธุ์ โดยสภาพอุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการพัฒนาอาการและขนาดของแผล เมื่อเปรียบเทียบอาการกับรายงานของ Miller (1990) และ Stovold *et al.* (2001) พบอาการมีลักษณะที่ต่างกันเล็กน้อย และเป็นการรายงานอาการบนกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส และแคทลียาซึ่งพบแผลที่มีรูปร่างการทำลายไม่แน่นอน กลางแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ ทั้งนี้ไม่มีการกล่าวถึงขอบแผล halo เหลือง แต่มีลักษณะที่เหมือนกันคือ แผลมีลักษณะเป็นแอ่ง ตรงกลาง

ยุบตัว แยกเก็บแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้สกุลแวนดา เพื่อใช้ในการทดสอบคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ ลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรค *A. avenae* subsp. *cattleyae* บนอาหาร NGA โคโลนีกลมใสขนาดเล็ก เมื่อบ่มเชื้อไว้นาน 3-5 วันเกิดการสร้างฝ้าขาวขุ่นรอบโคโลนีในอาหาร และบนอาหาร YDC ได้แบคทีเรียสีน้ำตาลอมส้ม ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้แบคทีเรียสาเหตุโรค 6 ไอโซเลท ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคบนกล้วยไม้สกุลแวนดาได้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ที่ใช้ในการทดลอง

ไอโซเลท	สกุลกล้วยไม้	แหล่งปลูก
P206	แวนดา	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี
P236	แอสโคเซนดา	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
P244	ช้างแดง	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี
P285	แวนดา	อ.พนมทวน จ.กาญจนบุรี
P377	แคทลียา	อ.โพธาราม จ.ราชบุรี
P391	แวนดา	อ.โกรกพระ จ.นครปฐม

2. การเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณผิวใบ ผิวรากกล้วยไม้ และหน้าวัว และแบคทีเรียเอ็นโดไฟท์ ที่อาศัยอยู่ในท่อลำเลียงพืช และแยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากหน้าวัว เนื่องจากหน้าวัวเป็นไม้ดอกที่มีสภาพการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนที่คล้ายกับการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ จากการแยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากกล้วยไม้และหน้าวัว พบว่าแบคทีเรียที่ได้จากหน้าวัวมีลักษณะโคโลนีที่มีความแตกต่างกัน มีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกเก็บจากกล้วยไม้ สันนิษฐานว่าอาจเป็นเพราะตัวอย่างกล้วยไม้ที่เก็บมาจากสวนเกษตรกรนั้นมีการใช้สารเคมีค่อนข้างมากในแปลงปลูกทำให้มีแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. เจริญอยู่บนผิวใบน้อยกว่า จากการทดลองแยกเก็บแบคทีเรียปฏิปักษ์จากหน้าวัวสายพันธุ์ต่างๆ และจากกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่หวาย แวนดา ช้าง ออนซิเดียม และแกรมมาโตฟัยลัม รวมทั้งสิ้น 56 ไอโซเลท (ภาพที่ 2) และแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. จาก culture collection จำนวน 91 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์หรือมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้หลายไอโซเลท

3. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* (Aacat.) โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์จะสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค เกิดบริเวณยับยั้งเป็นวงใส (clear zone) รอบกระดาษตาปลาที่หยดเซลล์

แขวนลอยของแบคทีเรีย (ภาพที่ 2) โดยแบคทีเรียบางไอโซเลทจะเจริญเป็นโคโลนีสีขุ่นรอบกระดาษและแบคทีเรียบางไอโซเลทสร้างบริเวณยับยั้งกว้างแต่มีลักษณะขุ่นไม่ใส ทำการวัดรัศมีของบริเวณยับยั้งหลังการทดลอง 1 วัน 2 วัน 5 วัน และ 7 วัน เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้างบริเวณใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้นาน 5-7 วัน ซึ่งจะทำให้ในการพ่นควบคุมโรคในโรงเรือนสามารถพ่นได้ทุก 5-7 วัน โดยมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ จากการทดลองพบว่าปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค มีความผันต่อไอโซเลทของเชื้อสาเหตุโรคที่ทดสอบ บางไอโซเลทพบการเกิด clear zone ของบริเวณยับยั้งได้ 1-2 วัน หลังจากนั้นแบคทีเรียสาเหตุโรคจะเจริญเข้าไปในบริเวณใสได้

คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์รวม 147 ไอโซเลท โดยทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 2 ไอโซเลทคือ P285 และ P391 พบว่า แบคทีเรียที่แยกเก็บจากกล้วยไม้และหน้าวัว จำนวน 56 ไอโซเลท มี 12 ไอโซเลทที่สามารถสร้างบริเวณใสของการยับยั้งได้ ทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ KA15, NA18, CHA22, KA24, KA25, KA33, KA34, WO01, DN21, DN12, GM12 และ GM11 รัศมีเฉลี่ย 1.8-7.3 มม. แบคทีเรียปฏิปักษ์ 18 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Aacat. ได้ ไอโซเลทเดียว จำนวน 18 ไอโซเลท และ 25 ไอโซเลท ไม่เกิดปฏิกิริยายับยั้งเลย สำหรับแบคทีเรียสกุล *Bacillus* จาก culture collection จำนวน 91 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Aacat. ได้ทั้งสองไอโซเลท จำนวน 10 ไอโซเลท และยับยั้งได้ไอโซเลทเดียว จำนวน 21 ไอโซเลท โดยพบว่าอีก 60 ไอโซเลทไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ (ตารางที่ 2)

จากการทดสอบปฏิกิริยาความผันแปรของการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค โดยเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 9 ไอโซเลท มาทดสอบกับแบคทีเรียสาเหตุโรค 6 ไอโซเลท พบว่าปฏิกิริยาการยับยั้งแตกต่างกันไป แบคทีเรียปฏิปักษ์บางไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 6 ไอโซเลท แต่มีรัศมีความกว้างแตกต่างกันไป จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้ในการควบคุมโรคโดยชีววิธีนั้น จะต้องทดสอบกับแบคทีเรียสาเหตุโรคหลาย ๆ ไอโซเลท เพื่อให้ชีวภัณฑ์สามารถควบคุมโรคได้ดีและมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ในพื้นที่ต่างกัน

4. คัดเลือกสารสกัดเห็ดตีนแรดในการควบคุมแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ทดสอบสารสกัดจากเห็ดตีนแรด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ อิงคศรี, ลพบุรี, 25(น้ำเห็ดลพบุรี) และ26 (น้ำเห็ดศูนย์เชื้อ) รวม 9 ตัวอย่าง โดยเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสารสกัดจากเห็ดตีนแรด สายพันธุ์อิงคศรี และลพบุรี มีสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ มีรัศมีส่วนใสของบริเวณยับยั้ง 1-2 มม. ซึ่งเป็นไปตามรายงานของต่างประเทศว่าเห็ดตีนแรดสร้างสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แต่เมื่อทำการสอบซ้ำหลายครั้งพบว่าปฏิกิริยาการยับยั้งมีความผันแปรไม่แน่นอน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารออกฤทธิ์มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายอย่าง ได้แก่ สายพันธุ์เชื้อ

อาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ สภาพการเลี้ยงอุณหภูมิ และระยะเวลาในการเขย่า ซึ่งควรมีการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสม เพื่อนำมาทดสอบ และพัฒนาเพื่อการควบคุมโรคต่อไป

ทดสอบสารสกัดเห็ดโอดีมาน รวม 32 ตัวอย่าง โดยเลี้ยงเห็ด 5 สายพันธุ์ในอาหารเหลว เก็บน้ำสกัดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 1 เดือน นำมาทดสอบสารออกฤทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเห็ดโอดีมาน ไม่มีประสิทธิภาพหรือสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดกล้วยไม้

5. การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ในรูปแบบผงอัดเม็ดฟู่

การผลิตชีวภัณฑ์เม็ดฟองฟู่ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดัดแปลงวิธีมาจากชีวภัณฑ์บาซิลลัสที่ใช้กำจัดน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้อัตราส่วนของสารสำคัญ คือเซลล์แบคทีเรีย สารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู่ กรดซิตริก กรดฟูมาริก และโซเดียมไบคาร์บอเนต และใช้ผงทัลคัมสารกันติดเตรียมเซลล์แบคทีเรีย ด้วยแมกนีเซียมซัลเฟต และ CMC คลุกส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันทั่วเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปอัดเม็ดด้วยแม่พิมพ์ให้ได้ผงอัดเม็ดฟู่ น้ำหนักเม็ดละประมาณ 4 กรัม จัดวางในถาดนำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3) ทิ้งไว้ข้ามคืน แพคเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่แห้งปิดซองเพื่อป้องกันอากาศและความชื้น

ทดสอบประสิทธิภาพของผงอัดเม็ดฟู่ โดยสุ่มทดสอบการละลาย พบว่าเมื่อใส่ลงไปในน้ำ ชีวภัณฑ์เม็ดฟู่จะละลายแตกตัวได้หมดภายใน 30 วินาที ถึง 1 นาที ให้สารแขวนลอยสีขาวถึงเทาอ่อน ซึ่งนำไปเจือจางสำหรับพ่นควบคุมโรคได้ ทั้งนี้พบว่าความคงตัวในรูปเม็ดและความสามารถในการแตกตัวของเม็ดฟองฟู่ จะลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน หรือเปิดปิดถุงบ่อย ๆ เนื่องจากส่วนประกอบที่ใช้ในสูตรชีวภัณฑ์สามารถดูดความชื้นได้ ทำให้เม็ดฟองฟู่ไม่จับกันเป็นเม็ดและสูญเสียความสามารถในการแตกตัวเมื่อเก็บไว้นานๆ ทั้งนี้ในอนาคตควรวิจัยพัฒนารูปแบบการเก็บชีวภัณฑ์เช่นเดียวกับชีวภัณฑ์กำจัดน้ำเสีย โดยมีการแพคบรรจุในอลูมินัมฟลอย์ที่ซิลปิดแบบสุญญากาศ สามารถแกะออกมาใช้หมดไปทีละเม็ด แก้ปัญหาความชื้นในการเก็บรักษาระยะยาว

6. การควบคุมโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้ในสภาพโรงเรือน

ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคบนกล้วยไม้สกุลแวนดาลูกผสม อายุ 4 เดือน โดยพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท (กรรมวิธี) ได้แก่ NA18, KA28, KA33, KA34, KA35 และได้พัฒนาวิธีชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 หนึ่งกรรมวิธี เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำเปล่าเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ผลการทดสอบพบว่าในระยะแรกของการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อและผงอัดเม็ดฟู่ให้ผลการควบคุมโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ แต่หลังจากพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคตามกรรมวิธี 5 ครั้ง พบว่าทุกกรรมวิธีให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการพ่นด้วยน้ำเปล่า (ภาพที่ 4) โดยกรรมวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA28 กล้วยไม้แสดงอาการโรคต่ำสุด (4.1) รองมาคือเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 (7.5) กรรมวิธีการพ่นชีวภัณฑ์แบคทีเรียไอโซเลท KA33 (8.7) ให้ผลการควบคุมโรคใกล้เคียงกับ

การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KA34 (8.3) และ KA35 (8.8) โดยการทดลองเปรียบเทียบพ่นน้ำเปล่า มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 14.7 แสดงว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้ได้ ทั้งนี้ควรมีการทำวิจัยต่อเนื่องและจำแนกแบคทีเรียปฏิปักษ์และพัฒนาชีวภัณฑ์ให้ได้มาตรฐาน มีอายุการเก็บรักษาได้นาน นำไปทดสอบการควบคุมในสภาพสวนของเกษตรกรต่อไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. แยกเก็บแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญลำต้นของกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ และหน้าวัว จำนวน 56 ไอโซเลท คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค *A. avenae* subsp. *cattleyae* ทั้งสองไอโซเลท คือ P285 และ P391 ได้จำนวน 12 ไอโซเลท และผลการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* จาก culture collection รวม 91 ไอโซเลท ได้แบคทีเรียที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลท จำนวน 10 ไอโซเลท

2. การสร้างสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญต่อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้มีความผันแปร ตามไอโซเลทของเชื้อ ดังนั้นในการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคสำหรับเกษตรกร จำเป็นต้องคัดเลือกต่อเชื้อสาเหตุโรคหลายไอโซเลทที่แยกได้จากต่างแหล่งปลูกพืช เพื่อให้สารออกฤทธิ์สามารถควบคุมได้กว้างเมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงเกษตรกร

3. การพัฒนาชีวภัณฑ์แบบผงอัดเม็ดฟู่ มีประสิทธิภาพในการละลายได้ภายใน 1 นาที เป็นชีวภัณฑ์ที่สะดวกสามารถใช้ละลายน้ำและพ่นควบคุมโรคได้ การเก็บรักษาได้ง่าย ทั้งนี้ควรมีการพัฒนาการผลิตให้ได้มาตรฐาน มีรูปแบบการเก็บรักษาให้มีอายุการเก็บรักษานาน

4. แบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ได้แก่ NA18, KA28, KA33, KA34 และ KA35 แยกเก็บเชื้อจากหน้าวัวและกล้วยไม้ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ควรนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อทดสอบในสภาพแปลงของเกษตรกรต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

พัฒนาวิธีการและชีวภัณฑ์ควบคุมโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ทั้งนี้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกและนำมาทดสอบ สามารถเจริญอยู่ได้ดีในสภาพโรงเรือน ควรพัฒนาเพื่อทดสอบในสภาพแปลงของเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2551. เตือนภัย! โรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้. วารสารข่าว No. สมาคมผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ไทย ร่วมกับศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดสมุทรสาคร (พืชสวน).

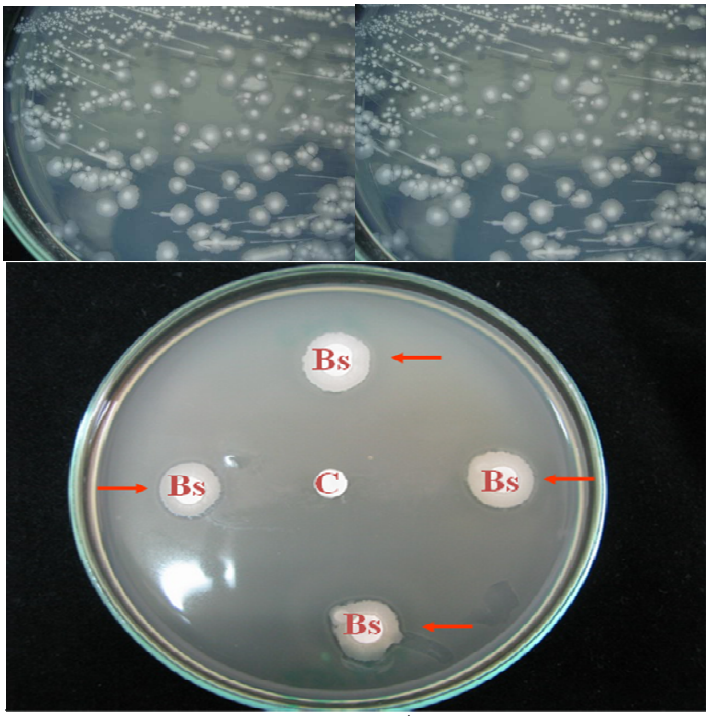
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และ จงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้สกุลแวนดา. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.

Miller, J. W. 1990. Bacterial Brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae*. Plant Pathology Circular no. 330.

Divinagracia, G.G., Candole., B.L., Cadapan, E.T. 1984. Some studies on bacterial brown spot of orchids caused by *Pseudomonas cattleyae* (Pavarino) Saverlesco. Summary in Philippine Phytopathology V20(1-2) p. 3-4. http://www.fao.org/agris/search/display.do;jsessionid-OAFA16C68D30999F6D009CO searched date: 24-08-2550

Fukui, R., H. Fukui and A. M. Alvarez. 1999. Suppression of bacterial blight by a community isolated from the futtation fluids of anthuriums. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1020-1028.

ภาพที่ 1 อาการโรคใบจุดเหลือง หรือใบจุดแบคทีเรีย บนกล้วยไม้สกุลแวนดา และลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* บนอาหาร NGA และ YDC



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่แยกเก็บจากกล้วยไม้และหน้าวัว และการเกิดบริเวณใส (clear zone) ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ตารางที่ 2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้ง ต่อเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (Aacat.)

ลำดับที่	แบคทีเรียปฏิปักษ์	รัศมีบริเวณใส (clear zone) ยับยั้งแบคทีเรีย Aacat. (มม.)	
		P285	P391
1	KA15	6.5	3.4
2	NA18	7.7	1.8
3	CHA22	5.1	2.9
4	KA24	6.1	4.0
5	KA25	7.4	2.1
6	KA28	5.8	0
7	KA33	4.5	4.2
8	KA34	7.3	3.3
9	KA35	6.8	0
10	GM11	7.5	4.5
11	WO01	5.2	2.8
12	1G7	4.4	6
13	2G23	4.2	7
14	19W5	5.7	2.6
15	20W18	8.1	7.7
16	20W23	8.2	4.2

หมายเหตุ: ไอโซเลทที่ 1-11 แยกจากกล้วยไม้และหน้าวัว ไอโซเลท 12-16 จาก culture collection

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *A. avanae* subsp. *cattleyae* (Aacat.) 6 ไอโซเลท

แบคทีเรียปฏิปักษ์	รัศมีบริเวณใส (clear zone) ยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย Aacat. ไอโซเลทต่าง ๆ (มม.)					
	P206	P236	P244	P285	P377	P391
PA12	2.33	4.70	1.77	5.70	1.33	0.67
Pho38	3.03	4.97	2.77	2.23	0.00	1.00
KA18	4.50	3.10	0.00	5.37	0.00	1.33
KA19	3.20	3.37	4.23	8.37	0.00	0.67
KA20	4.20	3.97	0.00	1.93	2.17	0.67
NA17	1.17	0.67	1.17	6.60	1.50	0.67
NA39	3.00	2.03	0.00	1.00	0.00	1.00
NA40	5.77	2.43	0.77	4.93	0.77	2.43
NA41	4.93	1.60	6.17	1.00	0.00	0.33

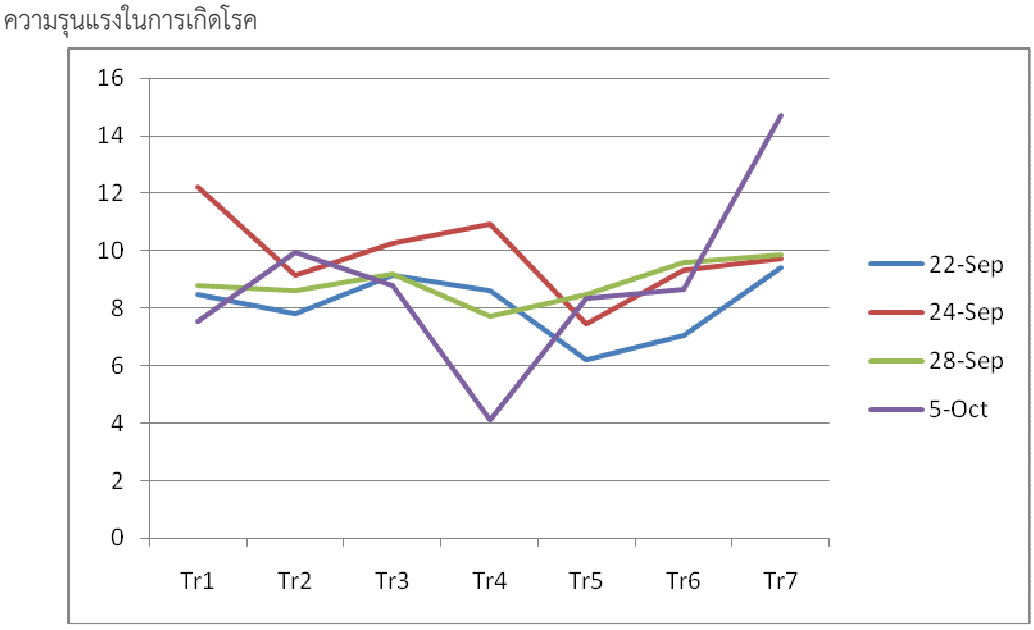
หมายเหตุ: ผลการทดสอบหลังจากการทดลอง 7 วัน

P206 ไอโซเลทจากแวนดา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี, P236 ไอโซเลทจากแอสโคเซนดา อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี

P2244 ไอโซเลทจากช้างแดง อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี, P285 ไอโซเลทจากแวนดา อ.พนมทวน จ.กาญนบุรี

P377 ไอโซเลทจากแคทลียา อ.โพธาราม จ.ราชบุรี, P391 ไอโซเลทจากแวนดา อ.โกรกพระ จ.นครสวรรค์

ภาพที่ 3_ ผงอัดเม็ดฟู่แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33



ภาพที่ 4 แสดงผลการควบคุมโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้โดยชีววิธี

Tr1, เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย KA33; Tr2, NA18; Tr3, KA35;

Tr4, KA28; Tr5, KA34 Tr6, ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ด KA33;

Tr7, กรรมวิธีเปรียบเทียบ น้ำเปล่า