การทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

Efficacy Test of *Bacillus subtilis* for Controlling *Alternaria brassicicola*, Causal Agent of Kale Leaf Spot

บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/]
วรางคนา แซ่อ้วง[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปี พ.ศ. 2554 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* (Ab) สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ซึ่งผ่านการคัดเลือกจากห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดสอบ 6 ไอโซเลท ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 17G18 และ SA6 โดยนำไปทดสอบในแปลงปลูกที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี 2 ฤดู โดยวิธีการพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในระหว่างเดือนธันวาคม 2553 – กุมภาพันธ์ 2554 และฤดูที่ 2 ระหว่างเดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2554 พบว่าในฤดูที่ 1 หลังการทดสอบ 7 วัน *Bacillus* sp. ทั้ง 6 ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb 80% WP โดยไอโซเลท 17G18 20W5 และ 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค การทดสอบในฤดูที่ 2 พบว่า ไอโซเลท 20W4 20W12 และ 20W11 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. โดยไอโซเลท 20W4 มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP ในปี 2555 ได้นำ 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 และ 17G18 มาปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์ผง และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูกเดิม ระหว่างเดือนมกราคม - มีนาคม 2555 พบว่า ทั้ง 5 ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุด โดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 32.88% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร mancozeb 80% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้น ในปี 2556 ได้ทำการทดสอบอัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง *B. subtilis* (Bs) ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า โดยทดสอบ 5 อัตราของ Bs ไอโซเลท 20W1 ที่แปลงปลูกเดิม พบว่า อัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา 20-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb 80% WP และอัตรา 40 – 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

รหัสการทดลอง 01-40-54-02-01-00-01-54

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, 2552) การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี ซึ่งในประเทศไทยได้มีการศึกษาวิจัยการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชและสามารถพัฒนาจนได้เป็นสารชีวินทรีย์หลายชนิดที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทียบได้กับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ทำการผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH4 ใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา และแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ *Alternaria* spp. *Phytophthora palmivora Fusarium* spp. *Rhizoctonia* sp. *Cercospora* spp. *Acrocylindrium oryzae Erwinia* spp. *Pyricularia oryzae Colletotrichum* spp. *Ralstonia solanacearum และ Xanthomonas campestris* (www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/.../plant_00.html -)

นอกจากนี้มีชีวินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ใช้ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวหรือโรคที่เกิดจากเชื้อราในดินของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดย *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราได้หลายชนิด สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไป ในดิน ปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ ฯลฯ ณัฏฐิมาและคณะ (2548) ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus* sp. จากดิน, รากพืชและปุ๋ยคอก ได้จำนวน 525 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า มี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100% นอกจากนี้ วรรณวิไล และคณะ (2548) ได้ทดลองพ่น *Bacillus* sp. ไอโซเลท WS 16 และWS 18 ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูก พบว่า ทั้งสองไอโซเลท สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นด้วยน้ำนึ่ง ปี 2550 บุษราคัม และ ณัฏฐิมา (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ พบว่า *Bacillus* sp. ไอโซเลท 2G4, 22W10, 20W12,17G18 และ 20W4 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ 100% และไอโซเลท 17G18 มีศักยภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวแตงกวา 100% โดยไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากทั้งเชื้อรา *F. oxysporum* และ *F. solani*

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

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.
3. ผงทัลคัม
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
5. ดินปลูก
6. กระถางปลูก
7. แปลงปลูกคะน้า ที่ จ. กาญจนบุรี

วิธีการ

ปฏิบัติดังนี้:

ขั้นตอนที่ 1: การทดสอบโดยวิธีพ่นด้วย cell suspension ในแปลงปลูก

ขั้นตอนที่ 2: การทดสอบโดยวิธีพ่นด้วย สารชีวภัณฑ์ ในแปลงปลูก

ขั้นตอนที่ 3: การทดสอบอัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ ในแปลงปลูก

1. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูก

การเตรียมพืชและแปลงทดลอง : เตรียมแปลงขนาดกว้าง 1.2 เมตร ยาว 5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงประมาณ 80 ซม. หว่านเมล็ดคะน้า และถอนแยก จนคะน้ามีอายุ 35 วัน

การเตรียมแบคทีเรียและเชื้อราทดสอบ: เลี้ยง *Bacillus* sp. 6 ไอโซเลท ได้แก่ 20W4 20W1 SA6 17G18 20W12 และ 20W5 บนอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน นำมาทำเป็น cell suspension โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มล.ต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนี/มล. สำหรับเชื้อรา Ab เตรียมโดย เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำมาทำเป็น cell suspension โดยใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับ *Bacillus* sp. ปรับความเข้มข้นให้ได้ประมาณ 10^4 โคโลนี/มล.

การดำเนินการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ

ฤดูที่ 1 ทดสอบระหว่างเดือนธันวาคม 2553 – กุมภาพันธ์ 2554 มี 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W4

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W1

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท SA6

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 17G18

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W12

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W5

กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)

กรรมวิธีที่ 9 พ่นด้วย Ab (Control +)

ฤดูที่ 2 ทดสอบระหว่างเดือนมิถุนายน 2554 – สิงหาคม 2554 มี 8 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W4
กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W12
กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W11
กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 17G18
กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย cell suspension *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W5
กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control-)
กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วย Ab (Control +)
โดยจะพ่น Bacillus sp. ก่อนพ่น Ab 2 วัน และพ่นอีกครั้งหลังจากพ่น Ab 2 วัน
การพ่น : พ่นด้วยถังพ่นธรรมดาชนิดอัดลม
การตรวจผล : ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบทั้งหมด โดยสุ่มต้นคะน้าจำนวน 50 ต้น/ซ้ำ ตรวจดูใบคู่ที่ 2 นับจากโคนต้น จำนวน 4 ใบ/ต้น ที่ 3, 5 และ 7 วันหลังการทดสอบ

2. ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก
- ทดสอบระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม 2555
- การดำเนินการทดลอง : วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำประกอบด้วย
กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W1
กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W4
กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W5
กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท 17G18
กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ไอโซเลท
กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วยน้ำเปล่า (Control -)
กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วย Ab (Control +)

ผสมปรุงแต่งสารชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ในรูปผง จำนวน 5 ไอโซเลท โดยใช้ทัลคัมเป็นสารนำพา จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดสอบคะน้า ที่อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี โดยนำผงผลิตภัณฑ์ *Bacillus* sp. ละลายน้ำ อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรปลูกเชื้อโดยวิธีพ่น โดยพ่นสารชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ก่อนและหลังการพ่นเชื้อราสาเหตุ *A. brassicicola* 2 วัน

การพ่น : พ่นด้วยถังพ่นธรรมดาชนิดอัดลม
การตรวจผล : ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบและก้านใบทั้งหมด โดยสุ่มต้นคะน้าจำนวน 50 ต้น/ซ้ำ ตรวจดูใบคู่ที่ 2 นับจากโคนต้น จำนวน 4 ใบ/ต้น ที่ 3, 5 และ 7 วันหลังการทดสอบ

3. ทดสอบอัตราที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ผง *B. subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในระดับแปลงปลูก
- ทดสอบระหว่าง เดือน มกราคม – พฤษภาคม 2556
วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้
กรรมวิธีที่ 1 ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท 20W1 อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท 20W1 อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท 20W1 อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท 20W1 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ผลิตภัณฑ์ Bacillus ผง ไอโซเลท 20W1 อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 Control (+) พ่น เชื้อรา Ab อย่างเดียว
กรรมวิธีที่ 8 Control (-) พ่นน้ำเปล่าอย่างเดียว

3. เตรียมแปลงปลูกคะน้า ที่ อ. ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี จำนวน 16 แปลง โดยมีขนาดแปลง เท่ากับ 1.50 x 30 เมตร

4. ปลูกคะน้าโดยวิธีหยอดเมล็ด จำนวน 16 แปลง

5. เมื่อคะน้าอายุได้ 60 วัน (เนื่องจากสภาพอากาศที่ร้อนจัด ทำให้คะน้าไม่เจริญเติบโต จึงจำเป็นต้องใช้อายุคะน้าที่ 60 วันแทนที่จะเป็น 30 วัน) ทำการพ่นสารละลายชีวภัณฑ์ *B. Subtilis* ไอโซเลท 20W1 อัตราต่างๆ โดยพ่นก่อนการ ปลูกเชื้อรา Ab 24 ชม. และ พ่นซ้ำอีกครั้ง หลังการปลูกเชื้อ Ab 48 ชม.

6. ตรวจผล โดยให้เป็นเปอร์เซนต์ของการเกิดโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบและต้นทั้งหมด โดยสุ่มคะน้า จำนวน 25 ต้น/ซ้ำ จำนวน 4 ใบ/ต้น

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

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

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. <u>ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก</u>

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในสภาพแปลงปลูก ฤดูที่ 1 พบว่า ที่ 3 และ5 วัน หลังการทดสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดทุกกรรมวิธีค่อนข้างต่ำ ทำให้ไม่สามารถสรุปความแตกต่างในการควบคุมโรคของแต่ละกรรมวิธี แต่ที่ 7 วัน หลังการทดสอบ พบว่า การพ่นด้วย *Bacillus* sp. ทั้ง 6 ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb 80% WP โดยไอโซเลท 17G18 20W5 และ 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค (ตารางที่ 1)

ในฤดูที่ 2 หลังการทดสอบ 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W4 20W12 และ 20W11 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำ กล่าวคือสามารถลดการเกิดโรคใบจุดบนคะน้าได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญ และเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วย mancozeb 80% WP และกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab ที่ 5 วันหลังการทดสอบ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W4 และ20W11 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab และกรรมวิธีที่พ่นด้วยmancozeb 80% WP และที่ 7 วันหลังการทดสอบ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยไอโซเลท 20W4 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำเปล่าซึ่งไม่มีการปลูกเชื้อ Ab และกรรมวิธีที่พ่นด้วยmancozeb 80% WP (ตารางที่ 2)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในแปลงปลูก

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในสภาพแปลงปลูก พบว่า หลังการทดสอบ 7 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่น *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. (C+) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการพ่น *Bacillus* sp. 4 ไอโซเลทที่พบการเกิดโรคต่ำกว่า 50 % คือ 20W1 20W5 17G18 และ 20W4 โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคเท่ากับ 41.26 43.55 43.88 และ 48.52 ตามลำดับ โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดโดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 32.88% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

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

ผลการทดสอบ พบว่า อัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา 20-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb 80% WP และอัตรา 40 – 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วย *Bacillus* sp. ที่ 3 5 และ 7 วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก ฤดูที่ 1 (เดือนธันวาคม 2553 – กุมภาพันธ์ 2554)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)		
	3 DAI[1/]	5 DAI[1/]	7 DAI[1/]
20W4	3.82	2.79	1.30 c
20W1	2.10	2.05	0.87 c
SA6	3.89	1.92	5.20 b
17G18	2.30	2.61	0.36 c
20W12	4.29	3.96	1.66 c
20W5	6.43	4.28	0.58 c
mancozeb 80% WP	6.12	9.50	1.94 c
Control (+)	9.73	7.25	10.57a
Control (-)	0.00	0.00	0.00 c
CV =	-	-	77.18

[1/] Days after inoculation = 3 5 และ7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วย *Bacillus* sp. ที่ 3 5 และ 7 วัน หลังการทดสอบในแปลงปลูก ฤดูที่ 2 (เดือนมิถุนายน 2554 – สิงหาคม 2554)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)		
	3DAI[1/]	5DAI[1/]	7DAI[1/]
20W4	2.91 c	2.79 d	1.23 d
20W12	6.44 bc	10.38 bc	12.86 b
20W1	2.70 c	6.23 cd	8.72 bc
17G18	10.82 ab	15.24 ab	14.02 b
C-	0.00 c	0.12 d	0.14 d
20W5	12.70 ab	14.60 ab	23.93 a
mancozeb 80% WP	1.40 c	1.90 d	2.42 cd
Control (+)	13.36 a	21.68 a	23.50 a
CV =	68.33	50.73	40.60

[1/] Days after inoculation = 3 5 และ7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ที่ 7 วัน หลังการ ทดสอบในแปลงปลูก

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)
	7 DAI[1/]
Control (-)	0.00e
mancozeb 80% WP	23.37d
20W1	41.26c
20W5	43.55c
17G18	43.88c
20W4	48.52c
20W12	61.70b
Control (+)	79.70a
CV (%)	11.21

[1/] Days after inoculation = 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ซึ่งควบคุมด้วยผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* sp. ที่ 7 วัน หลังการ ทดสอบในแปลงปลูก

อัตรา Bs (กรัม/น้ำ20ลิตร)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)
	7 DAI[1/]
T1	7.79 b
T2	5.76 b
T3	1.88 c
T4	0.91 c
T5	5.85 b
T6	7.29 b
T7	24.00 a
T8	0.40 c
CV (%)	36.92

[1/] Days after inoculation = 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* (Ab) สาเหตุโรคใบจุดคะน้า 6 ไอโซเลท ในระดับแปลงปลูกที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี 2 ฤดู ในช่วงที่สภาพอากาศมีความเย็นสูง พบว่า ไอโซเลท 17G18 20W5 และ 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยสามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นด้วย *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb 80% WP โดย

การพ่นด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ในช่วงฤดูฝน พบว่า ไอโซเลท 20W4 20W12 และ 20W11 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. โดยไอโซเลท 20W4 มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP

การพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงของ *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 และ 17G18 พบว่า ทั้ง 5 ไอโซเลทมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Bacillus* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุด โดยสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 32.88% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่น *Baciilus* sp. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสาร mancozeb 80% WP พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดสอบอัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ไอโซเลท 20W1 พบว่า อัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ Bs ทุกอัตราที่ทดสอบสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่มีการพ่น Bs โดย อัตรา 20 - 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีเทียบเท่ากับการพ่นด้วยสารmancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และอัตรา 40 – 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีกว่าการพ่นด้วยสาร mancozeb 80% WP อัตราดังกล่าว

ดังนั้น *B. subtilis* ไอโซเลท 20W1 เป็นไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าในแปลงปลูก โดยอัตราของผลิตภัณฑ์ผงที่เหมาะสมคือ 20-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม (ไม่ระบุปี พ.ศ.) . www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/.../plant_00.html สืบค้นเมื่อ 28 สิงหาคม 2553

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ , อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและแตงกวา. หน้า 210-211.*ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ (บทคัดย่อ) ครั้งที่ 8, 20-22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน องเมือง จ. พิษณุโลก

พรพิมล อธิปัญญาคม. 2552. โรคใบจุด.หน้า 93-94. *ใน* คู่มือโรคผัก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วรรณวิไล อินทนู จิระเดช แจ่มสว่าง และวราภรณ์ สุทธิสา. 2548. การควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ด้วยชีววิธีด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. หน้า 123-130. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาพืช.