

### บทคัดย่อ

การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากพืชบนที่สูง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคราสนิมขาวของเบญจมาศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Puccinia horiana* ได้ จำนวน 2 ไอโซเลท คือ AK-MCL5 แยกได้จากสระสระแห้ง และ KW-CAR17 แยกได้จากบัวบก เมื่อนำทั้ง 2 ไอโซเลท มาพัฒนาเป็นสูตรชีวภัณฑ์ต้นแบบชนิดผง โดยเปรียบเทียบกับสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท AK-MCL5 เหมาะสมกับสูตรทลคัม-1 และสูตรทลคัม-2 โดยมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังผลิตทันทีเฉลี่ย  $1.01 \times 10^8$  และ  $1.08 \times 10^8$  cfu/ชีวภัณฑ์ 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KW-CAR17 เหมาะสมกับสูตรแป้งข้าวโพด และสูตรทลคัม-1 โดยมีปริมาณเชื้อเฉลี่ย  $3.67 \times 10^7$  และ  $6.67 \times 10^6$  cfu/ชีวภัณฑ์ 1 กรัม ตามลำดับ การคัดเลือกต้นแบบชีวภัณฑ์ จำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรทลคัม-1 และสูตรทลคัม-2 จากเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท AK-MCL5 และ สูตรแป้งข้าวเจ้า และสูตรทลคัม-2 จากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KW-CAR17 โดยอาศัยคุณสมบัติประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราสนิมขาวในห้องปฏิบัติการ และต้นทุนของวัตถุดิบ ด้วยวิธี detached leaf หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรทลคัม-1 และสูตรทลคัม-2 ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท AK-MCL5 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 87.50 และ 71.51 ตามลำดับ ในขณะที่ต้นแบบชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท KW-CAR17 พบว่า ต้นแบบสูตรแป้งข้าวเจ้า และสูตรทลคัม-2 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง เท่ากับ 48.33 และ 43.25 ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผสมในอาหารแต่ละสูตร พบว่า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 เดือน ต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรทลคัม-1 และสูตรทลคัม-2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท AK-MCL5 เท่ากับ  $10^7$  cfu/ ชีวภัณฑ์ 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KW-CAR17 ไม่พบการรอดชีวิต การศึกษาความเป็นพิษหรือผลกระทบหลังการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละสูตรต่อใบและดอกของเบญจมาศ พบว่า ต้นแบบชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท AK-MCL5 ในสูตรทลคัม-1 และสูตรทลคัม-2 และต้นแบบชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KW-CAR17 ในสูตรแป้งข้าวเจ้า และสูตรทลคัม-2 ไม่ทำให้เกิดความเสียหายหรือทำให้ใบและดอกเบญจมาศ แสดงอาการผิดปกติ

การทดสอบอัตราการใช้ต้นแบบชีวภัณฑ์ ที่เก็บรักษาไว้ 1 เดือน และสารทดแทนสารเคมีในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี detached leaf หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรทลคัม-1 และ สูตรทลคัม-2 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 83.63 และ 77.58 ตามลำดับ ในขณะที่ petroleum oil อัตรา 5% และ 3% พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง เท่ากับ 95.00 และ 90.00 ตามลำดับ จึงได้คัดเลือกต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรทลคัม-1 และ petroleum oil อัตรา 3%

ในสภาพแปลงทดสอบ โดยเริ่มทดสอบตั้งแต่ระยะหลังการย้ายปลูก จนถึงหลังจากพ่นสาร 42 วัน พบว่า การใช้ต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรทลคัม-1 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ระยะการพ่นซ้ำทุก 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคได้มากที่สุด คือ 86.67 สำหรับ petroleum oil 3% พบว่าที่ระยะการพ่นซ้ำทุก 14 วัน มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคได้ 68.89 ในขณะที่สารเคมีไพราโคลสโตรบิน ยับยั้งโรคราสนิมขาวได้ 51.11 เปอร์เซ็นต์ จึงได้คัดเลือกต้นแบบชีวภัณฑ์ AK-MCL5 สูตรทลคัม-1 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน และ petroleum oil อัตรา 3% พ่นทุก 14 วัน ไปเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์การค้า *Bacillus subtilis* อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน สปู่อ่อน อัตรา 1.25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร พ่นทุก 7 วัน และสารเคมีไพราโคลสโตรบิน อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน พบว่า ในวันที่ 56 หลังการทดสอบ ไม่มีการระบาดของโรค ทุกกรรมวิธี เมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตต้นแบบชีวภัณฑ์และสารทดแทนสารเคมีที่คัดเลือกในสภาพแปลงปลูกพืชต่อหน่วยพื้นที่ (บาท/ 300 ต้น/ฤดูการปลูกนาน 5 เดือน) ในหน่วยของ Lab scale และหน่วยการค้า พบว่าการใช้ petroleum oil อัตรา 3% จำนวน 8 ครั้ง มีต้นทุนการใช้ต่ำสุดเท่ากับ 2,506.64 และ 2,544.00 บาท ตามลำดับ ส่วนการใช้ต้นแบบชีวภัณฑ์ AK-MCL5 สูตรทลคัม-1 อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 16 ครั้ง มีต้นทุนการใช้ 4,814.63 บาท และ 4,819.66 บาท ตามลำดับ

**คำสำคัญ** แบคทีเรียปฏิชีวนะ ชีวภัณฑ์ โรคราสนิมขาว เบนูจมาศ

### Abstract

Selection of antagonistic microorganisms from high land plants found that there were 2 isolates of antagonistic bacteria consisting of AK-MCL5, isolated from peppermint, and KW-CAR17, isolated from centella, which had the high efficacy on controlling white rust disease of chrysanthemum caused by *Puccinia horiana*. Bio-pesticides formulations of these 2 isolates were developed and revealed among of all 7 formulations, there were 2 formulations including talcum-1 and talcum-2 that suitable for AK-MCL5 by had bacterial concentration at immediately after production as  $1.08 \times 10^8$  and  $1.01 \times 10^8$  cfu/ml, respectively. For KW-CAR17, corn powder and talcum-1 formulations were appropriated and had bacterial concentration at immediately after production as  $3.67 \times 10^7$  and  $6.67 \times 10^6$  cfu/ml, respectively. Four bioformulations consisting of talcum-1 and talcum-2 of AK-MCL5, rice powder and talcum-2 of KW-CAR17 were selected based on the high efficacy on controlling chrysanthemum white rust disease under laboratory and low cost of ingredients for bioformulation production. The efficacy on controlling white rust disease by using detached leaf technique of bio-pesticide after 1 month of storage was evaluated and found that talcum-1 and talcum-2 bio-pesticide of AK-MCL5 had 87.50 and 71.51% of inhibition at 7 days after treatment. Rice powder and talcum-2 bio-pesticide of KW-CAR17 had 48.33 and 43.25% of inhibition, respectively. Moreover, when study of toxicity or effects after use of each bio-pesticide on leaves and flowers of chrysanthemum found that all of tested bio-pesticide had no negative effects on chrysanthemum. The results of study on utilization rate of bio-pesticide after 1 month of storage and chemical substitute by using detached leaf method showed that at 7 days after testing talcum-1 and talcum-2 bio-pesticide at utilization rate of 40 g/ 20 L of water had 83.63 and 77.58% of inhibition, respectively, while application of 5 and 3% petroleum oil had 95.00 and 90.00% of inhibition, respectively. Therefore, talcum-1 and talcum-2 bio-pesticide at utilization rate of 40 g/ 20 L of water and 3% petroleum oil, which all of these had the efficacy higher than 70%, were selected to test under field condition. The bio-pesticide and petroleum oil were sprayed on all of both sides of leaves and the test was conducted since after



transplanting until reached at 42 days after spraying. The results showed that talcum-1 bio-pesticide at utilization rate of 40 g/ 20 L of water with repeat spraying every 7 days had 86.67% of disease control and 3% petroleum oil with repeat spraying every 14 days had 68.89% of disease control, while pyraclostrobin, a commercial chemical, had 51.11% of disease control.

Talcum-1 bio-product of antagonistic bacteria isolate AK-MCL5 at utilization rate 40 g/20 L of water and used every 7 days and 3% petroleum oil used every 14 days were selected for testing the efficacy on control of chrysanthemum white rust disease and compared to commercial pesticides including commercial bacterial bio-product, *Bacillus subtilis*, at utilization rate 100 g/20 L of water used every 7 days, mild soap at utilization rate 1.25 ml/1 L of water used every 7 days and pyraclostrobin at utilization rate 15 ml/20 L of water used every 7 days. The results showed that no disease and symptoms were found from all treatments at 56 days after application. When considering on the cost of bio-product production and petroleum oil which were selected for using in the field condition per unit area (Baht/ 300 plants/ 5 months of plantation). When considering in the laboratory scale and 2 types of commercial chemicals found that 3% petroleum oil used for 8 times had the lowest cost of laboratory scale as 2,506.64 Baht/ 300 plants/ 5 months of plantation and had the cost of commercial scale as 2,544.00 Baht/ 300 plants/ 5 months of plantation. The application of talum-1 bio-product of the antagonistic bacterium AK-MCL5 at utilization rate of 40 g/ 20 L of water with 16 times of application had the cost of laboratory scale as 4,814.63 Baht/ 300 plants/ 5 months of plantation and had the cost of commercial scale as 4,819.66 Baht/ 300 plants/ 5 months of plantation.