บทคัดย่อ

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลทและยีสต์ปฏิปักษ์ จำนวน 4 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคขอบใบไหม้ของกะหล่ำปลี และ เชื้อรา *Cercospora* sp สาเหตุโรคใบจุดตากบของผักกาดหอมห่อ โดยได้ศึกษาปัจจัยแวดล้อมต่อการควบคุมโรคขอบใบไหม้กะหล่ำปลีด้วยวิธี paper disc method และใบจุดตากบผักกาดหอมห่อด้วยวิธี dual culture ภายใต้อุณหภูมิ 4, 10, 25, 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (อยู่ระหว่าง 24-28 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้ยังเลี้ยงบนอาหารที่มีค่า pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 รวมถึงความชื้นสัมพัทธ์ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์ปกติภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ (อยู่ในช่วง 60-80 เปอร์เซ็นต์) พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท LBF02, T14 และ TKC1 และเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท FiNH 2 และ SlMH 4 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท LBF02, LBF03, SRF08, SRR02, B6 และ T5 และเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท FiNH 2 และ SlMH 4 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ เชื้อ *Cercospora* sp.ได้ในสภาวะที่แปรปรวนต่างๆ ทั้งอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์ปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าว ไม่แสดงความเป็นพิษบนใบกะหล่ำปลี และไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด จึงนำเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิดนี้มาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ คือ ชีวภัณฑ์สูตรสูตรผง1 (F1) และแกรนูล (F2) จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท T14 (T14F1 และ T14F2) และ TKC1 (TKF1 และ TKF2) เช่นเดียวกับเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ ที่นำมาผลิตชีวภัณฑ์สองสูตรคือ สูตรผง2 (F3) และสูตรน้ำ (F4) จากเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท FiNH2 (FIF3 และ FIF4) และ SlMH4 (SLF3 และ SLF4) พบว่าเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ ไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในชีวภัณฑ์สูตรผง2 (F3) ได้เกิน 1 เดือน ทั้งนี้ชีวภัณฑ์สูตรน้ำ (F4) และชีวภัณฑ์สูตรผง1 (F1) และแกรนูล (F2) ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* เทียบเท่ากับเซลล์สด ทั้งนี้ชีวภัณฑ์แต่ละสูตร มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบไหม้ของกะหล่ำปลีได้ดี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีความสามารถในการอยู่รอดได้บนใบพืชมากกว่า 15 วัน และ ยังคงความมีชีวิตรอดอยู่ในชีวภัณฑ์ได้มากกว่า 3 เดือน เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในสภาพโรงเรือน กรรมวิธีฉีดพ่นชีวภัณฑ์สูตรผง1 TKC1 (TKF1) ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 1 ชั่วโมง และการฉีดพ่นชีวภัณฑ์ที่มีเชื้อยีสต์ FIF4 และ SlF4 ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 3 วัน

ส่วนการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 4 ไอโซเลท และยีสต์ปฏิปักษ์ จำนวน 2 ไอโซเลท เพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ ในการควบคุมโรคใบจุดตากบของผักกาดหอมห่อ พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ LBF02, SRR02, B6 และ T5 อีกทั้งยังส่งเสริมการงอกของเมล็ดพืชและไม่มีความเป็นพิษกับใบผักกาดหอมห่อ จากนั้นได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลทมาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์สูตรผง1 (F1) และแกรนูล (F2) พบว่าสารชีวภัณฑ์ทั้ง 2 แบบ มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Cercospora* sp. ได้ดีเทียบเท่ากับเซลล์สด นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารชีวภัณฑ์มีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยและอยู่มีชีวิตอยู่รอดในชีวภัณฑ์มากกว่า 3 เดือน ดังนั้นจึงคัดเลือกสารชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มา 2 ไอโซเลท คือ LBF02 (LBF1 และ LBF2) และ B6 (B6F1 และ B6F2) ทดสอบสารชีวภัณฑ์ในสภาพโรงเรือน โดยกรรมวิธีที่ใช้สารชีวภัณฑ์สูตร LBF1 และ B6F1 ช่วยลดระดับการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี โดยพบระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่าในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว และชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ มีชีวิตอยู่รอดบนใบผักกาดหอมห่อได้มากกว่า 15 วัน ส่วน ชีวภัณฑ์จากยีสต์ปฏิปักษ์ FIF3, FIF4, SLF3 และ SLF4 พบว่า ในชีวภัณฑ์สูตรผง2 (F3) ไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ ได้เกิน 1 เดือน จึงใช้สารชีวภัณฑ์สูตรน้ำ (F4) ทดสอบในสภาพโรงเรือน กรรมวิธีการฉีดพ่นชีวภัณฑ์ FIF4 ก่อน 1 ชั่วโมง แล้วฉีดพ่นเชื้อรา และการฉีดพ่นชีวภัณฑ์ SLF4 ก่อน 3 วัน มีประสิทธิภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นจะพบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สามารถช่วยลดระดับการเกิดโรคได้ในสภาพโรงเรือน เมื่อมีการใช้สารชีวภัณฑ์ก่อนการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค

Abstract

The eight isolates antagonistic bacteria and four isolates antagonistic yeast for environmental factors study were selected. There were studied effect for controlling *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* caused of black rot disease in cabbage by using paper disc method and Cercospora leaf spot disease in lettuce by using dual culture method. The antagonistic bacteria isolate LBF02, T14 and TKC1 and antagonistic yeast isolate FiNH 2 and SlMH 4 were inhibit of *X. campestris* pv. *campestris* growth under variable condition of temperature at 4, 10, 25, room temperature (between 24-28 degrees Celsius) and 35 degrees Celsius, pH from pH4 - pH8 and condition of relative humidity at 60-80 (normal) and 100 percent in room temperature (Between 25-32 degrees Celsius) and 30 degrees Celsius. Additional under the same condition, the antagonistic bacteria isolates LBF02, LBF03, SRF08, SRR02, B6, T5 and antagonistic yeast isolate FiNH 2, SlMH 4 were inhibition growth of *Cercospora* sp. as well. Selection of appropriate antagonistic bacteria and yeast for development of formulation to control plant pathogen shown that among the 6 isolate of antagonistic bacteria and the 2 isolate of antagonistic yeast. The antagonistic bacteria isolate LBF02, LBF03, SRF08, SRR02, B6 and T5 and antagonistic yeast isolate FiNH 2 and SlMH 4 did not shown effect to seed germination. In addition, the antagonist did not shown toxicity to cabbage and lettuce leaves too.

Preparation of each formulation; powder formulation 1 (F1); granules formulation (F2), powder formulation 2 (F3) and liquid formulation (F4) was prepared. The number of bacteria and yeast living within each formulation stored under condition of room temperature for counting bacteria after produce and counting each month until 3 months. The result showed that bacteria and yeast in powder formulation 1 (F1), granules formulation (F2) and liquid formulation (F4) could survive up to 3 month but yeast in powder formulation 2 (F3) could not survive after 1 month. Moreover the bacteria in powder formulation 1 (F1), granules formulation (F2) and yeast in liquid formulation (F4) could survive on surface of cabbage and lettuce leaves up to 15 days

after apply. In the greenhouse experiments were conducted to test the effectiveness of products from antagonistic bacteria isolate T14 and TKC1 (T14F1, TKF1, T14F2 and TKF2) ; antagonistic yeast isolates FiNH2 and SlMH4 (FIF4 and SLF4) on black rot disease in cabbage. The results TKF1 showed that high efficiency to control black rot disease in cabbage, when spraying one hour before pathogen inoculation and the same as SLF4 sprayed three days before pathogen inoculation as well. Moreover, the effectiveness of products from antagonistic bacteria isolate LBF02 (LBF1 and LBF2) and B6 (B6F1 and B6F2) on Cercospora leaf spot disease in lettuce was tested. The result shown that using antagonistic bacterial products of LBF1 and B6F1 before inoculation pathogen could control lettuce pathogens, yeast products FIF4 to apply one hour before inoculated *Cercospora* sp. and therefore the using spraying of SLF4 before three days, decreased the infection of the pathogens as well.