**ชื่อโครงการ** การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์และการพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

**ชื่อผู้วิจัย** มานะ กาญจนมณีเสถียร[1] อัจฉรา เพ็งหนู[2] ฤดีกร วิวัฒนปฐพี[2] และวานิด รอดเนียม[3]

**หน่วยงานที่สังกัด** [1]มหาวิทยาลัยศิลปากร [2]มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และ [3]มหาวิทยาลัยทักษิณ

**แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย** สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 (ต่อเนื่อง 2 ปี)

**ปีที่เสร็จ** พ.ศ. 2556

**ประเภทการวิจัย** การวิจัยประยุกต์

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ (1) เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium* spp. ในการปลูกพืชระบบไฮโดรโพนิกส์ (2) พัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพและคงตัวเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ และ (3) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus velezensis* ที่แยกได้จากรากพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Pythium helicoides*, *Aphanomyces* sp. และ *P. aphanidermatum* ที่พบในระบบไฮโดรโพนิกส์ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus velezensis* มีความสามารถในการผลิต IAA มีขนาดเอนโดสปอร์ค่อนข้างใหญ่ และไม่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดอื่น จึงได้รับการคัดเลือกนำมาใช้ในการผลิตชีวภัณฑ์

การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบแกรนูลชนิดละลายน้ำ ซึ่งประกอบด้วยสปอร์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ lactose และ polyvinyl pyrrolidone K-30 พบว่า สูตรตำรับ F8 มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม ละลายน้ำได้ดี มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรตำรับ $10^{10}$ CFU/g และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Aphanomyces* sp. สูง (96%) อย่างไรก็ตาม หลังจากเก็บชีวภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32°C) เป็นเวลา 6 เดือน ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในชีวภัณฑ์มีแนวโน้มลดลง

การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้น ซึ่งประกอบด้วยสปอร์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์กระจายตัวในของเหลว โดยอาศัยสารแขวนตะกอน xanthan gum พบว่า สูตรตำรับ F4 มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรตำรับ $10^{10}$ CFU/g มี

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Aphanomyces* sp. สูง (90.8%) ไม่เกิดการตกตะกอนหลังจากตั้งไว้ 4 สัปดาห์ หลังจากเก็บชีวภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในชีวภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

เมื่อนำชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้นมาทำการทดสอบกับพืชทั้งในห้องปฏิบัติการ และกับพืชที่ปลูกในโรงเรือนปลูกพืชระบบไฮโดรโพนิกส์ (ระบบ dynamic root floating technique) พบว่าเมื่อทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการลดเปอร์เซ็นต์การตายที่เกิดกับเมล็ดของผัก *Lactuca sativa* และลดเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายที่รากพืชของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า (*P. aphanidermatum*)

เมื่อทำการทดสอบกับพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ (ระบบ dynamic root floating technique) ณ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรี พบว่าเมื่อฉีดพ่น (spraying) ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้น ($10^{13}$ CFU/มิลลิลิตร) [1% และ 10% (ปริมาตรโดยปริมาตร) ตามลำดับ] ไปยังรากของผัก (*L. sativa* var. Red Coral ที่ปรากฏอาการของโรคแล้วอย่างชัดเจน และ *L. sativa* var. Green Oak ที่ไม่ปรากฏอาการของโรค) จะสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายที่รากพืชของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าที่ปรากฏในระบบปลูก และยังพบว่าการฉีดพ่นชีวภัณฑ์มีผลต่อในการเพิ่มน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของพืชด้วยเช่นกัน

เมื่อทำการทดสอบกับพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ (ระบบ dynamic root floating technique) พบว่าเมื่อราด (drenching) ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* รูปแบบของเหลวแขวนตะกอนเข้มข้นไปยังผัก *Brassica campestris* var. *chinensis* สามารถเพิ่มน้ำหนักสดของผักชนิดนี้ด้วยเช่นกัน

**คำสำคัญ :** การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ โรคพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

**Research Title Screening of bacterial antagonists and development of bacterial antagonist formulations for controlling diseases of vegetable in hydroponics condition**

**Researcher** Mana Kanjanamaneesathian[1], Ashara Pengnoo[2], Ruedeekorn Wiwattanapatapee[2] and Wanit Rotniam[3]

**Office** [1]Silpakorn University, [2]Prince of Songkla University and [3]Taksin University

**Research Grants** Research and Development Institute, Silpakorn University, Fiscal Budget of Year 2010 (Two years project)

**Year of Completion** 2013

**Type of research** applied research

## Abstract

This research project aimed to (1) select an effective bacterial antagonists to control disease caused by *Pythium* spp. in vegetables grown in hydroponic system (2) develop the formulations of a bacterial antagonist, *B. velezensis,* in water-soluble granule and suspension concentrate forms and (3) test the efficacy of the selected formulation in controlling root rot disease in vegetable in hydroponic production system.

*Bacillus velezensis*, isolated from root of vegetable grown hydroponically, was effective in inhibiting a mycelial growth of *Pythium helicoides*, *Aphanomyces* sp. and *P. aphanidermatum* presented in the hydroponic system. This bacterium had relatively large endospore and was capable of producing IAA, a plant growth hormone. This bacterium was subsequently chosen for formulation study.

Granule formulations were composed of the bacterial endospores of *B. velezensis*, lactose and polyvinyl pyrrolidone K-30. The formulation F8 had good physical characteristics and high water solubility. Granules contained bacteria in the range of $10^{10}$ CFU/g and performed high mycelial growth inhibition of *Aphanomyces* sp. (96 %). However, the population of *B. velezensis* in the formulation had decreased with time after 6 months storage at room temperature (26-32°C).

Suspension concentrate formulations were composed of the bacterial spores dispersed in concentrate liquid using xanthan gum as a suspending agent. The formulation F4 had good physical characteristics and there was no sedimentation occurred after 4 week storage at room temperature. The

formulation contained bacteria in the range of $10^{10}$ CFU/g and performed high mycelial growth inhibition of *Aphanomyces* sp. (90.8 %). The population of *B. velezensis* in the suspension concentrate remained high and had a tendency to increase after 6 months storage at room temperature.

Initial results indicated that the suspension concentrate formulation was effective in controlling root rot when applied directly to seedlings of *L. sativa*. This efficacy was, however, nullified when the formulation was applied as a suspension to raise these seedlings.

The suspension concentrate formulation was sprayed onto the roots of one-month-old *Lactuca sativa*, grown by the dynamic root floating technique (DRFT) used as the hydroponic growing system, in two efficacy trials. In the first test with *L. sativa* (var. Red Coral) with root rot symptoms, a 1% suspension concentrate formulation ($10^{13}$ CFU/mL) (v/v) was effective in reducing the %age of root tips colonized by the pathogen and for increasing the fresh shoot weight. In the second test with *L. sativa* (var. Green Oak) using healthy-looking roots, a 10% suspension concentrate formulation ($10^{13}$ CFU/mL) (v/v) was also effective in reducing the %age of root tips colonized by the pathogen. The suspension concentrate formulation of the bacterium increased the fresh shoot weight.

This formulation, when applied as a drench treatment to seedlings of *Brassica campestris* var. *chinensis*, increased growth of this vegetable.

**Key words :** development of bacterial antagonist formulations, diseases of vegetable in hydroponics condition