วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* (Butler)

Efficacy of bioproduct *Bacillus* spp. for controlling root and stem rot disease of durian caused by *Phytophthora palmivora* (Butler)

พรศิลป์ สีเผือก[1]*, สกุลรัตน์ หาญศึก[2] และ พัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์[1]

Pornsil Seephueak[1]*, Sakulrat Hansuek[2] and Patcharaporn Vanichpakorn[1]

[1] *คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อ. ทุ่งใหญ่ จ. นครศรีธรรมราช 80240*
[1] *Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, Thung Yai, Nakhon Si Thammarat 80240*
[2] *คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อ. ทุ่งสง จ. นครศรีธรรมราช 80110*
[2] *Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, Thung Song, Nakhon Si Thammarat 80110*

บทคัดย่อ: *Phytophthora palmivora* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในดิน ก่อให้เกิดโรครากและโคนเน่าของทุเรียน สร้างความเสียหายระดับเศรษฐกิจ แบคทีเรียเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อพืชสามารถใช้ควบคุมเชื้อก่อโรคพืชได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียน นำชีวภัณฑ์ 4 สูตร ได้แก่ *Bacillus subtilis* BS003, *Bacillus subtilis* BS006, *Bacillus velezensis* BS011 และ *Bacillus siamensis* BS013 ทดสอบการควบคุมโรครากและโคนเน่าทุเรียนในโรงเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) จำนวน 8 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีแมนโคเซป ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ที่จำหน่ายเชิงการค้า ชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) ผลการศึกษาพบว่า การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น สามารถควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนดีที่สุด การเกิดโรค ดัชนีความรุนแรงของโรค และการควบคุมโรค เท่ากับ 1.67, 0.33 และ 97.12% ตามลำดับ รองลงมาคือ การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006, *B. siamensis* BS013 และ *B. subtilis* BS003 พบการเกิดโรค เท่ากับ 8.13, 9.49 และ 16.76% ดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 1.63, 1.90 และ 6.35% และการควบคุมโรค เท่ากับ 85.79, 83.44 และ 44.64% ตามลำดับ ส่วนการใช้แมนโคเซป และชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ที่จำหน่ายทางการค้า การเกิดโรค เท่ากับ 13.10 และ 13.89% ดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 2.62 และ 2.78% และการควบคุมโรค เท่ากับ 77.16 และ 75.76% ตามลำดับ ในขณะที่การใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006 พบจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียรวมหลังทดสอบ 30 วัน สูงสุด เท่ากับ 1.01 x 10^7 cfu/g soil

คำสำคัญ : ชีวภัณฑ์; *Bacillus*; โรครากและโคนเน่า; ทุเรียน; *Phytophthora palmivora*

ABSTRACT: *Phytophthora palmivora* is a soil-borne pathogen that causes root and stem rot diseases in durian trees, leading to significant economic losses. Endophytic bacteria, which are non-pathogenic, can be used to control plant pathogens. The objective of this research was to test the effectiveness of *Bacillus* bioproducts in controlling root and stem rot disease of durian. The efficacy of four formulas, namely *Bacillus subtilis* BS003, *Bacillus subtilis* BS006, *Bacillus velezensis* BS011, and *Bacillus siamensis* BS013, in controlling root and stem rot disease was tested under

* Corresponding author: pornsil.s@rmutsv.ac.th

Received: date; March 21, 2024 Revised: date; August 9, 2024

Accepted: date; August 28, 2024 Published: date;

greenhouse conditions. The experiments were conducted using a completely randomized design (CRD) with 8 treatments and four replications. The study compared the effectiveness of the chemical Mancozeb, commercial *B. subtilis* bioproduct, control (distilled water) and control checked (healthy plants). The results showed that *B. velezensis* BS011, applied at a rate of 100 g/20 L of water per 50 ml/tree, was highly effective, with disease incidences, disease severity indices and disease control efficacy of 1.67, 0.33 and 97.12%, respectively. Following, *B. subtilis* BS006, *B. siamensis* BS013, and *B. subtilis* BS003 bioproducts showed disease incidences of 8.13, 9.49 and 16.76%, respectively, disease severity indices of 1.63, 1.90 and 6.35%, respectively and disease control efficacy of 85.79, 83.44 and 44.64%, respectively. While, use of Mancozeb and the commercial *B. subtilis* product, which had disease incidences of 13.10 and 13.89%, disease severity indices of 2.62 and 2.78% and disease control efficacy of 77.16 and 75.76%, respectively. Whereas, the total populations of *B. subtilis* BS006 after 30 days of testing were high, obtaining 1.01 x 10^7 cfu/g of soil.

Keywords: bioproduct; *Bacillus*; root and stem rot disease; durian; *Phytophthora palmivora*

บทนำ

โรครากและโคนเน่าของทุเรียน (root and stem rot disease of durian) เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. เป็นปัญหาที่สำคัญของการผลิตทุเรียนของเกษตรกร เชื้อก่อโรคสามารถเข้าทำลายทุกส่วนของพืชและทุกระยะของการเจริญเติบโต ทำให้ทุเรียนเกิดอาการรากและโคนเน่า ลำต้นเน่า ผลเน่า และใบไหม้ นอกจากเชื้อ *Phytophthora* spp. จะเป็นเชื้อก่อโรคที่สร้างความเสียหายร้ายแรงต่อทุเรียนแล้ว ยังพบว่าเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจอีกหลายชนิด เช่น ยางพารา โกโก้ พริก มะเขือ และพืชผัก เป็นต้น ทุเรียนเป็นพืชที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Phytophthora* spp. พบรายงานมีหลายสปีชีส์ทำให้เกิดโรครากและโคนเน่าในหลายประเทศที่ปลูกทุเรียน ได้แก่ ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และออสเตรเลีย (Gara et al., 2004) มีรายงานสาเหตุเกิดจากเชื้อ *P. nicotianae* และ *P. botryosa* (Brown 1997; Erwin and Ribeiro,1996) และ *P. palmivora* โดยเชื้อ *P. palmivora* เป็นเชื้อก่อโรคที่พบระบาดและสร้างความสียหายมากที่สุด โดยเฉพาะในประเทศไทย (Somnuek et al., 2023) สำหรับการผลิตทุเรียนในภาคใต้ พบว่าเกษตรกรมักประสบปัญหาโรครากและโคนเน่าทุเรียน เนื่องจากภาคใต้มีสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเกิดโรคพืช ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ซึ่งมีช่วงระยะเวลายาวนาน ฝนตกปริมาณมากและต่อเนื่อง และมีสภาพอากาศร้อนชื้น ทำให้เกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรง ยากต่อการป้องกันกำจัด เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคของทุเรียน เนื่องจากเห็นผลเร็วและในช่วงแรกมักเห็นผลดี อย่างไรก็ตามเมื่อมีการใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน พบว่าเชื้อสาเหตุโรคเกิดการต้านทาน (Hardham and Blackman, 2018) ทำให้ต้องใช้สารเคมีที่หลากหลายและเพิ่มความถี่ของการใช้ ซึ่งอาจทำให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิต เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม

แบคทีเรียเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับพืชอาศัยแบบพึ่งพา เจริญในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช มักเจอในส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยเฉพาะในพืชชั้นสูงที่แข็งแรง (Gond et al., 2015; Li et al., 2012; White et al., 2014) เอนโดไฟท์แบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* ถูกนำมาใช้เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืช เนื่องจากสามารถสร้างสารปฏิชีวนะหลายชนิด ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดโรคพืช มีคุณสมบัติโดดเด่นด้านการส่งเสริมการเจริญของพืช ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันให้พืช ทำให้พืชแข็งแรง และมีผลผลิตสูงขึ้น (Ali et al., 2023) สามารถมีชีวิตรอดได้นานในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยเชื้อ *Bacillus* จะผลิตสารกลุ่ม lipopeptide เช่น surfactins, iturins และ fengycins และเอนไซม์บางชนิด เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Gond et al., 2015) ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* (Ali et al., 2023; Gond et al., 2015) *B. cereus* (Hakizimana et al., 2011) *B. pumilus*, *B. licheniformis* (Islam et al., 2010) *B. velezensis* (Khan et al., 2020) และ *B. siamensis* (Ngo et al., 2020) โดยที่ Masanto et al. (2020); Simamora et al. (2021) รายงานว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าดำ (black pod rot) ของโกโก้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เอนโดไฟท์ *Bacillus* spp. จำนวน 4 สูตร ซึ่งเป็นสายพันธุ์พื้นถิ่นแยกได้จากใบทุเรียน เพื่อควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียน เป็นอีกแนวทางหนึ่งของการควบคุมโรคพืชอย่างยั่งยืน ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา

เตรียมชีวภัณฑ์เชื้อ *Bacillus* spp.

เชื้อแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus subtilis* BS003, *Bacillus subtilis* BS006, *Bacillus velezensis* BS011 และ *Bacillus siamensis* BS013 เป็นเชื้อเอนโดไฟท์แยกได้จากใบทุเรียน (ยืนยันระดับสปีชีส์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุล 16S rDNA (พรศิลป์และคณะ, 2567) ทำการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. เพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA เป็นเวลา 48 ชม. เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.85% ปริมาตร 1 มล. ในจานเพาะเชื้อ ใช้ลูปขูดโคโลนี แล้วใช้ปิเปตดูดเซลล์แขวนลอยที่ได้ลงในขวดรูปชมพู่ซึ่งภายในบรรจุอาหารแข็ง PDA นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 50 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นเก็บเซลล์แบคทีเรียด้วยการนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 10 นาที นำไปตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง และนำเซลล์ตกตะกอนที่ได้ไปล้างปั่น ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 2 ครั้ง ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที และความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 ครั้ง หลังจากนั้นนำเซลล์ที่ตกตะกอนไปแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C เป็นระยะเวลา 60 นาที (ดัดแปลงจาก อมรรัตน์, 2547) เก็บเซลล์ที่ได้มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ 40 มล. นำไปผสมกับทัลคัม (talcum) 99 กรัม และโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (sodium carboxymethyl cellulose; sCMC) จำนวน 1 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปอบให้แห้งและบดให้เป็นผงละเอียด ตรวจสอบปริมาณเชื้อโดยวิธี serial dilution pour plate ปริมาณเชื้อไม่น้อยกว่า 1 x 10^9 cfu/g W เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 °C) เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนถัดไป

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. palmivora*

เลี้ยงเชื้อ *P. palmivora* บนอาหาร PDA เมื่ออายุครบ 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะปลายเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* ที่เจริญบนอาหาร PDA นำไปวางตรงกลางของจานอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* ด้วยวิธี poison food (Mayachiew and Devahastin, 2014) โดยละลายชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. แต่ละสูตร อัตรา 0.5 กรัม ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 100 มล. ขณะอุ่น (อุณหภูมิ 55-60 °C) เขย่าให้เข้ากัน เทลงจานอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ปริมาตร 25 มล./จาน ปล่อยให้เย็นก่อนนำไปใช้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 4 จาน ประกอบด้วย ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS003, *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011, *B. siamensis* BS013, สารเคมีไฮเมซาโซล (Hymexazol), แมนโคเซป (Mancozeb) (อัตราตามฉลาก) และชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 °C) บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อ หลังทดสอบ 3, 5 และ 7 วัน นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* จากสูตร {[(A-C)-(B-C)]/(A-C)} x 100 เมื่อ A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีบนอาหารชุดควบคุม (มม.), B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีบนอาหาร ที่ผสมสารทดสอบ (มม.) และ C = เส้นผ่านศูนย์กลาง cork borer ขนาด 0.5 ซม. (ดัดแปลงจาก จินตนา และคณะ, 2559) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในโรงเรือนทดลอง

คัดเลือกต้นกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทอง อายุ 6 เดือน ที่มีขนาดทรงพุ่มและความสูงใกล้เคียงกัน ซึ่งเพาะไว้ในถุงเพาะกล้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว ทดสอบด้วยวิธีการตัดราก โดยเตรียมสารแขวนลอยสปอร์แรงเจียม (sporangium) เชื้อ *P. palmivora* ปรับความเข้มข้น 1 x 10^8 สปอร์/มล. ปริมาตร 10 มล. ผสมกับเส้นใยที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (mycelial plug) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. จำนวน 5 ชิ้น/ต้น ราดบริเวณโคนต้นทุเรียน หลังจากนั้น 2 วัน ราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS003, *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งแช่ทิ้งไว้ 20 ชม. ก่อนนำไปราดบริเวณโคนต้นทุเรียน ปริมาตร 50 มล./ต้น วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 4 ต้น เปรียบเทียบกับสารเคมีแมนโคเซป (อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ที่จำหน่ายเชิงการค้า (อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20

ลิตร), ชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) และชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) ทดสอบซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 2 ครั้ง บันทึกจำนวนใบที่แสดงอาการเกิดโรค แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence; %DI) ดัดแปลงจาก Kim et al. (2021) จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \left[\frac{\text{จำนวนใบที่เกิดอาการเหี่ยว/ร่วง}}{\text{จำนวนใบทั้งหมดบนกิ่ง (4 กิ่ง/ต้น)}} \right] \times 100$$

กำหนดระดับคะแนนความรุนแรงของโรค (disease severity score) เป็น 6 ระดับ (0-5 scales) (ดัดแปลงจาก Bhusal and Mmbaga, 2020) ดังนี้ ระดับ 0 = ลักษณะอาการไม่เกิดโรค ระดับ 1 = ลักษณะอาการใบเหี่ยวเล็กน้อย บางใบ มีใบร่วง 2-4 ใบ ระดับ 2 = ลักษณะอาการใบเหี่ยวปานกลาง ใบร่วง มากกว่า 5 ใบ ระดับ 3 = ลักษณะอาการใบเหี่ยวมาก ใบร่วง มากกว่า 10 ใบ ระดับ 4 = ลักษณะอาการใบเหี่ยวเหลือง ร่วงหล่นทั้งต้น และ ระดับ 5 = ลักษณะอาการยืนต้นตาย นำค่าที่ได้ไปคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (disease severity index; %DSI) จากสูตรดัดแปลงจาก Bhusal and Mmbaga (2020)

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \left[\frac{\sum (\text{ระดับคะแนนความรุนแรง x จำนวนใบทุเรียนที่ระดับคะแนนความรุนแรงนั้น})}{\text{ระดับคะแนนความรุนแรงสูงสุด x จำนวนใบทุเรียนทั้งหมดที่ทดสอบ}} \right] \times 100$$

คำนวณร้อยละการควบคุมโรค (disease control efficacy) จากสูตร (A–B)/A × 100 เมื่อ A คือ ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมที่ราดเฉพาะเชื้อ *P. palmivora* และ B คือ ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ (ดัดแปลงจาก Lebsing et al., 2021) ทำการตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียรวมในดินทั้งหมดที่อยู่บริเวณรากพืช หลังการทดสอบ 30 วัน โดยวิธีการ serial dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โดยนำตัวอย่างดินบริเวณรอบโคนต้นกล้าทุเรียน จำนวน 1 กรัม ผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล. เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} – 10^{-7} ดูดสารละลายปริมาตร 0.1 มล. ใส่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยเชื้อให้กระจายสม่ำเสมอ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-32 °C) ตรวจนับโคโลนีแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนผิวอาหาร

ผลการศึกษา

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. palmivora*

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ทั้ง 4 สูตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) วันที่ 3 หลังการทดสอบ พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS003, *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* อยู่ในช่วง 56.10 -57.88% ไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับการใช้สารเคมีแมนโคเซป ซึ่งมีการยับยั้งเท่ากับ 57.88% ส่วนไฮเมซาโซล การยับยั้งเท่ากับ 41.19% เมื่อครบระยะเวลา 5 วัน พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS013 และ *B. subtilis* BS003 มีค่าการยับยั้งเท่ากับ 67.70 และ 66.42% ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการใช้สารเคมีแมนโคเซป ซึ่งมีการยับยั้งเท่ากับ 69.02% และเมื่อครบ 7 วัน พบว่า การใช้สารเคมีแมนโคเซปมีประสิทธิภาพดีสุด การยับยั้งเท่ากับ 80.40% รองลงมาคือ กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 การยับยั้งเท่ากัน คือ 77.14% ในขณะที่ *B. subtilis* BS006 และ *B. subtilis* BS003 การยับยั้ง เท่ากับ 31.81 และ 4.51% ตามลำดับ ในขณะที่ไฮเมซาโซลยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 58.36% **(Table 1) (Figure 1)**

Table 1 Inhibition growth of the *Bacillus* spp. bioproduct for control *Phytophthora palmivora* using poison food technique on PDA

Treatments	Inhibition growth (%)[1/]		
	3 days	5 days	7 days
B. subtilis BS003	56.10±4.12[a]	66.42±3.31[ab]	4.51±2.11[e]
B. subtilis BS006	56.16±3.04[a]	62.54±3.19[b]	31.81±2.39[d]
B. velezensis BS011	56.10±4.12[a]	62.54±3.19[b]	77.14±0.36[b]
B. siamensis BS013	57.88±0.85[a]	67.70±3.10[ab]	77.14±0.36[b]
Hymexazol	41.19±3.92[b]	45.75±3.29[b]	58.36±0.96[c]
Mancozeb	57.88±0.85[a]	69.02±0.76[a]	80.40±0.31[a]
Control (distilled water)	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]
C.V. (%)	6.30	5.11	2.71
Significant Difference	**	**	**

[1/]Means within the same column with a common letter are not significantly different by DMRT (P<0.01, **)

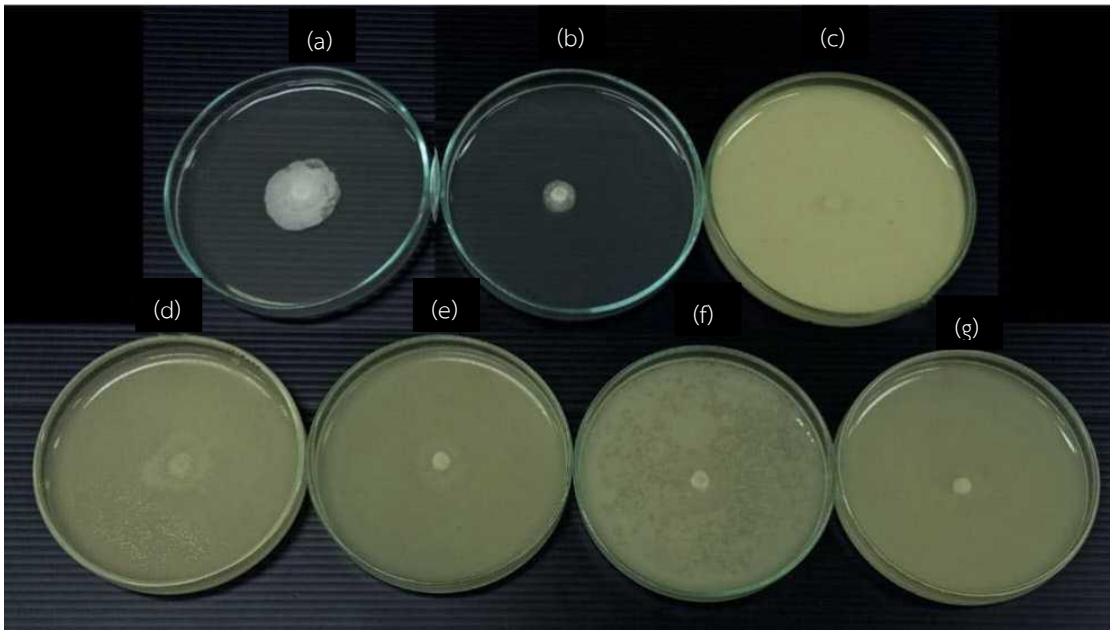

Figure 1 Inhibition growth of the *Bacillus* spp. bioproduct for control *Phytophthora palmivora* using poison food technique on PDA, control (a); Hymexazol (b); Mancozeb (c); *Bacillus subtilis* BS003 (d); *Bacillus subtilis* BS006 (e); *Bacillus velezensis* BS011 (f) and *Bacillus siamensis* BS013 (g)

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ต่อการควบคุมการเกิดโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนในโรงเรือนทดลอง

ผลการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS003, *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าทุเรียนในสภาพโรงเรือน เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 30 วัน พบว่า ต้นกล้าทุเรียนแสดงอาการเกิดโรคอย่างเห็นได้ชัด ใบทุเรียนแสดงอาการใบเหี่ยวเหลือง ร่วงหล่น และยืนต้นตาย **(Figure 2)** โดยกรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 พบการ

เกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยสุด เท่ากับ 1.67 และ 0.33% รองลงมา คือกรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006, *Bacillus* BS013, แมนโคเซป, *B. subtilis* และ *B. subtilis* BS003 การเกิดโรคเท่ากับ 8.13, 9.49, 13.10, 13.89 และ 16.76% ตามลำดับ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 1.63, 1.90, 2.62, 2.78 และ 6.35% ตามลำดับ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่ชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) พบการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคสูงสุด เท่ากับ 30.38 และ 11.47% ตามลำดับ ส่วนชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) ไม่พบการเกิดโรค สำหรับประสิทธิภาพในการควบคุมโรค พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 ควบคุมโรคได้สูงสุด 97.12% ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) การควบคุมโรค 100% รองลงมาคือ การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006, *B. siamensis* BS013, แมนโคเซป, *B. subtilis* และ *B. subtilis* BS003 การควบคุมโรค เท่ากับ 85.79, 83.44, 77.16, 75.76 และ 44.64% ตามลำดับ **(Table 2)**

ผลการศึกษาจำนวนประชากรแบคทีเรียรวมทั้งหมดหลังการราดชีวภัณฑ์ เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 30 วัน พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยกรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006 มีจำนวนประชากรแบคทีเรียรวมมากสุด เท่ากับ 1.01×10^7 cfu/g soil รองลงมาคือ กรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011, *B. subtilis* BS003, *B. siamensis* BS013 จำนวนประชากรแบคทีเรียรวมเท่ากับ 7.25, 5.73 และ 1.31×10^6 cfu/g soil ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ที่จำหน่ายเชิงการค้า และแมนโคเซป จำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 6.38 และ 5.33×10^5 cfu/g soil ตามลำดับ ส่วนชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) และชุดควบคุม จำนวนประชากรแบคทีเรียรวม เท่ากับ 4.38 และ 3.15×10^4 cfu/g soil ตามลำดับ **(Table 2)**

Table 2 Potential of bioproduct of *Bacillus* spp. for control root and stem rot disease of durian

Treatments	Disease incidence (%)	Disease severity index (%)	Disease control efficacy (%)	Colony Forming Unit (cfu/g soil)
B. subtilis BS003	16.76±2.01^{ab}	6.35±1.0^{ab}	44.64±0.62^{e}	5.73×10^6±0.36^{c}
B. subtilis BS006	8.13±0.98^{ab}	1.63±1.97^{b}	85.79±0.86^{c}	1.01×10^7±0.13^{a}
B. velezensis BS011	1.67±0.33^{b}	0.33±0.67^{b}	97.12±0.67^{b}	7.25×10^6±0.21^{b}
B. siamensis BS013	9.49±0.51^{ab}	1.90±1.01^{b}	83.44±2.13^{c}	1.31×10^6±0.01^{d}
B. subtilis	13.89±1.60^{ab}	2.78±3.21^{b}	75.76±2.38^{d}	6.38×10^5±0.02^{e}
Mancozeb	13.10±1.78^{ab}	2.62±3.60^{b}	77.16±1.81^{d}	5.33×10^5±0.02^{e}
Control (distilled water)	30.38±1.47^{a}	11.47±9.26^{a}	0.00±0.00^{f}	3.15×10^4±0.00^{g}
Control checked (healthy plant)	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00^{a}	4.38×10^4±0.00^{f}
C.V. (%)	11.06	15.29	1.95	4.82
Significant Difference	**	*	**	**

[1/]Means within the same column with a common letter are not significantly different by DMRT ($P<0.01$, **); ($P<0.05$, *)

(a) (b) (c)

Figure 2 The symptoms of root and stem rot disease of durian after inoculation with *Phytophthora palmivora*, chlorosis and wilting (a); leave fall (b) compared with healthy plant (control checked)

วิจารณ์

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* แตกต่างกัน พบว่า ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 และ *B. siamense* BS013 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อได้ดีตลอดการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ การยับยั้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นต่อเนื่อง จนกระทั่งเมื่อครบระยะเวลา 7 วัน การยับยั้งเท่ากับ 77.14% ในขณะที่การใช้เชื้อ *B. subtilis* BS003 และ *B. subtilis* BS006 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* ได้ดีในระยะ 5 วันแรกของการทดสอบ และเมื่อครบระยะเวลา 7 วัน มีประสิทธิภาพการยับยั้งลดลง เท่ากับ 4.51 และ 31.81% ตามลำดับ ส่วนสารเคมีแมนโคเซปและไฮเมซาโซลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ตลอดระยะเวลาทดสอบ และเมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 7 วัน แมนโคเซปสามารถยับยั้งได้สูงสุด เท่ากับ 80.40% ส่วนการใช้ไฮเมซาโซลการยับยั้ง เท่ากับ 58.36% ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารเคมีแมนโคเซปมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* เมื่อเทียบกับการใช้สารเคมีไฮเมซาโซล Siddique et al. (2019) รายงานว่า สารเคมีทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Phytophthora* spp. อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษานี้ พบว่า สารเคมีไฮเมซาโซลมีประสิทธิภาพปานกลางในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* โดยทั่วไปสารเคมีที่เกษตรกรนิยมนำมาใช้เพื่อป้องกันกำจัดโรครากและโคนเน่าของทุเรียน ได้แก่ เมทาแลกซิล (metalaxyl), ฟอสอีทิล-อะลูมิเนียม (fosetyl- aluminium; phosphonates) และแมนโคเซป (mancozeb; dithiocarbamates) (Somnuek et al., 2023) แต่ปัจจุบันพบว่า สารเคมีเหล่านี้ไม่สามารถป้องกันกำจัดเชื้อ *Phytophthora* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีการใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นระยะเวลานานทำให้เชื้อต้านยา (Somnuek et al., 2023; Puig et al., 2021; Vawdrey et al., 2015) โดยที่ Kongtrogoul et al. (2021) รายงานว่าเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่แยกได้จากจังหวัดชุมพร ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อรามากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางและต่อเนื่อง เกี่ยวกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคพืช ซึ่งพบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ช่วยปกป้องพืชจากการเข้าทำลายจากเชื้อโรคและแมลงศัตรูพืช (Gond et al., 2015) โดยเฉพาะเชื้อเอนโดไฟท์จีนัส *Bacillus* ที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชชั้นสูง (White et al., 2014) มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืช สามารถผลิตสารปฏิชีวนะและเอนไซม์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* ได้เป็นอย่างดี (Syed-Ab-Rahman et al., 2018) นอกจากนี้ยังพบว่า *Bacillus* มีส่วนในการชักนำให้ยืนพืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรค (Ahemad and Kibret, 2014; Gond et al., 2015) และมีรายงานว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* ได้หลายสปีชีส์ เช่น *P. cinnamomi* (Hakizimana et al., 2011), *P. nicotianae* (Guo et

al., 2020), *P. heveae* (Dam et al., 2018), *P. capsici* (Mmbaga and Maheshwari, 2018), *P. citrophthora* และ *P. palmivora* (Masanto et al., 2020; Simamora et al., 2021) เป็นต้น

จากผลการศึกษา พบว่า ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียน พบการเกิดโรคเพียง 1.67% และดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 0.33% ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) ส่วนการควบคุมโรคเท่ากับ 97.12% ในขณะที่กรรมวิธีการราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006, *B. siamensis* BS013, สารเคมีแมนโคเซป, *B. subtilis* ที่จำหน่ายเชิงการค้า และ *B. subtilis* BS003 พบการเกิดโรคอยู่ในช่วง 8.13-16.76% ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ราดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาดัชนีความรุนแรงของโรค พบว่า กรรมวิธีที่ราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011, *B. siamensis* BS013, *B. subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด และสารเคมีแมนโคเซป มีดัชนีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับชุดตรวจสอบ (พืชปกติ)

เชื้อ *Bacillus* จัดเป็น Rhizobacterium มียีนที่สามารถสังเคราะห์สารปฏิชีวนะได้ปริมาณ 4-5% ดังนั้นจึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อราและลดระดับความรุนแรงของโรคได้ค่อนข้างสูง (Stein, 2005) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่าเชื้อ *B. velezensis* มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง (Kim et al., 2021) เชื้อ *B. velezensis* Ba168 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. nicotianae* สาเหตุโรค tobacco black shank โดยลดการเกิดโรคด้วยการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อก่อโรค (Guo et al., 2020) ในขณะที่เชื้อ *B. velezensis* FZB42 สามารถยับยั้งเชื้อ *P. sojae* ด้วยการผลิตเอนไซม์ bacillomycin D และ fengycin (Han et al., 2021) นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora, P. nicotianae*, และ *P. infestans* (นลินี และคณะ, 2556; Danial et al., 2024; Grosch et al., 1999; Han et al., 2021; Kim et al., 2021) ในขณะที่เชื้อ *B. siamensis* H30-3 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. cactorum* สาเหตุโรค leather rot และ crown rot ของสตรอว์เบอร์รี (Park et al., 2021) และ *B. siamensis* HT1 สามารถยับยั้งเชื้อ *P. sojae* สาเหตุโรครากเน่าของถั่วเหลืองได้สูงถึง 82.44% (He et al., 2022)

การใช้จุลินทรีย์เอนโดไฟท์เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชให้มีประสิทธิภาพ ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย นอกจากชนิดของเอนโดไฟท์แล้ว วิธีการใช้หรือเทคนิคการใช้ชีวภัณฑ์ก็มีความสำคัญเช่นกัน สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ใช้วิธีการราดชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. บริเวณรากรอบโคนต้นกล้าทุเรียน และเก็บตัวอย่างดินส่วนที่ติดกับรากมาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากโดยทั่วไปเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถดำรงชีวิตได้ในดินและบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) ได้เป็นอย่างดี สอดคล้องกับการศึกษาของ Ji et al. (2006) รายงานว่า การราดชีวภัณฑ์ลงในดินบริเวณที่มีรากพืช เป็นวิธีการที่ดีทำให้พืชแข็งแรง ใบพืชไม่เหี่ยวหรือร่วงหล่น เป็นวิธีการป้องกันเชื้อ *Phytophthora* ที่ดีที่สุด เนื่องจากเชื้อ *Phytophthora* เป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคในดิน ซึ่งมีคลามายโดสปอร์ (chlamydospores) และโอโอสปอร์ (oospore) ที่อยู่ในดินและมีชีวิตรอดได้ยาวนาน Danial et al. (2024) รายงานว่าการใช้ *Bacillus* sp. ราดลงดินร่วมกับการพ่นทางใบ สามารถควบคุมเชื้อ *P. palmivora* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยทำให้แผลบนใบทุเรียนมีขนาดเล็ก 28.93 มล. และควบคุมโรคได้ 62.05% นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้เชื้อ *Bacillus* ร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ชนิดอื่น ๆ เช่น *Streptomyces* หรือ *Pseudomonas* ก็สามารถยับยั้งเชื้อ *Phytophthora* ได้เป็นอย่างดี

เมื่อพิจารณาจำนวนประชากรแบคทีเรียรวมทั้งหมดหลังราดด้วยชีวภัณฑ์ ทั้ง 4 สูตร พบว่า การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006 มีจำนวนประชากรแบคทีเรียที่รอดชีวิตสูงสุด เท่ากับ 1.01×10^7 cfu/g soil รองลงมาคือ การราดด้วยชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 มีจำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรียรวม เท่ากับ 7.25×10^6 cfu/g soil ผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดสอบของ พรศิลป์ และคณะ (2567) ซึ่งราดด้วยเซลล์แขวนลอย พบว่า *B. velezensis* BS011 และ *B. subtilis* BS006 มีจำนวนประชากรเชื้อในดินหลังการทดสอบ 30 วัน เท่ากับ 1.21 และ 1.09×10^7 cfu/g soil ตามลำดับ *Bacillus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการแข่งขันด้านแหล่งที่อยู่อาศัยได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค โดยที่เชื้อ *Bacillus* ที่มีคุณสมบัติเป็นเอนโดไฟท์ จะสามารถเจริญครอบครองส่วนของพืชและมีชีวิตรอดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและรูปแบบการใช้ เชื้อ *Bacillus* นอกจากจะช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (plant growth-promoting rhizobacteria; PGPR) ยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยการครอบครองและเข้าไปอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชได้ดี ช่วยป้องกันพืชจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทั้งที่เกิดจากไม่มีชีวิตและมีชีวิต (Maslennikova et al., 2023) นอกจากนี้

Adeleke et al. (2021) รายงานว่า การมีชีวิตรอดของเชื้อเอนโดไฟท์ในสิ่งแวดล้อมขึ้นอยู่กับยีนของเชื้อจุลินทรีย์นั้น เชื้อ *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อก่อโรคในดินอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถเจริญภายในรากพืชและในดินได้เป็นอย่างดี เมื่อใช้ทางดิน อีกทั้งยังสามารถช่วยดูดซับสารพิษในดินได้ (Maslennikova et al., 2023) นอกจากนี้ Nicholson et al. (2000) รายงานว่า *B. subtilis* สามารถมีชีวิตได้ยาวนานในสภาพแวดล้อมที่เหมะสม และทนความร้อนได้สูง (Mahapatra et al., 2022) อย่างไรก็ตาม ชนิดของพืช ประเภทของดิน และความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ก็มีผลต่อการเข้าครอบครองหรือมีชีวิตรอดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์เช่นกัน (Kilian et al., 2000; Mahapatra et al., 2022) ดังนั้นการนำชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* spp. ไปประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสม จะทำให้สามารถลดการเกิดโรครากและโคนเน่าของทุเรียนได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

สรุป

ชีวภัณฑ์แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* ได้ดีเมื่อทดสอบระดับห้องปฏิบัติการ การยับยั้งเท่ากับ 77.14% เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการคบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนในโรงเรือนทดลอง พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์ *B. velezensis* BS011 สามารถควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนดีที่สุด พบการเกิดโรค ดัชนีความรุนแรงของโรค และการควบคุมโรค เท่ากับ 1.67, 0.33 และ 97.12% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS006 พบจำนวนประชากรแบคทีเรียรวมในดินมากที่สุด เท่ากับ 1.01 x 10^7 cfu/ g soil

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2566 ขอขอบคุณเกษตรกรกลุ่มทุเรียนแปลงใหญ่ช้างกลาง อำเภอช้างกลาง จังหวัดนครศรีธรรมราช สำหรับความร่วมมือในการเก็บข้อมูลและอนุเคราะห์พื้นที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จินตนา ต๊ะย่วน, เกียรติศักดิ์ ราชัยสวรรค์ และสุขุมาภรณ์ ศรีเผด็จ. 2559. การควบคุมเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคใบไหม้ข้าว. วารสารแก่นเกษตร. 44 (ฉบับพิเศษ 1): 972-976.

นลินี ศิวากรณ์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และศิริพร วรกุลดำรงชัย. 2556. การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*. รายงานผลงานวิจัยประจ าปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/research/showthread.php?tid=1090. ค้นเมื่อ 20 มีนาคม 2567.

พรศิลป์ สีเผือก, สกุลรัตน์ หาญศึก และพัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์. 2567. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* ในสภาพโรงเรือนทดลอง. วารสารแก่นเกษตร. 52: 610-620.

อมรรัตน์ ชุมทอง. 2547. การคัดเลือกและการพัฒนาสูตรตำรับของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคไหม้ของถั่วหรั่ง (*Vigna subterranean* (L.) Ver c. ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Adeleke, B. S., O. O. Babalola, and B. R. Glick. 2021. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. Rhizosphere. 20: 100433. Available: https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100433. Accessed Mar. 9, 2024.

Ahemad, M., and M. Kibret. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King Saud University Science. 26: 1-20.

Ali, A., I. Tabbasum, H. Azeem, F. Olmez, G. Deveci, B. Khalid, and M. Mehtab. 2023. Bacterial endophytes, a resilient way toward sustainable agriculture: provide plant growth promotion and biocontrol of plant pathogens. Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences. 11: 153-174.

Bhusal, B., and M. T. Mmbaga. 2020. Biological control of *Phytophthora* blight and growth promotion in sweet pepper by *Bacillus* species. Biological Control. 150: 104373. Available: https://doi.org/ 10.1016/j. biocontrol.2020.104373 Accessed Mar. 20, 2024.

Brown, M. J. 1997. Durio - A bibliographic review. International Plant Genetic Resources Institute Office. New Delhi, India. Available: http://www.ipgri.cgiar.org/system/page.asp?theme=3. Accessed Mar. 20, 2024.

Dam, T. V., T. Q. Pham, Q. N. Dang, and C. M. Nguyen. 2018. Endophytes and using for management of *Phytophthora* leaf fall disease of rubber tree plantations in south east Vietnam. International Journal of Agriculture and Rural Development. 22: 25-32.

Danial, N. D. N., S. Matthews, N. F. M. Maran, and N. A. Kharim. 2024. Assessment of *Streptomyces* sp. and *Bacillus* sp. against *Phytophthora palmivora*, the causal agent of durian canker disease through different application methods at the nurser stage. Journal of Agrobiotechnology. 15: 18-24.

Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. St Paul, Minnesota, USA, APS Press.

Gara, E. O., D. I. Guest, L. Vawdrey, P. Langdon, and Y. Diczbalis. 2004. *Phytophthora* diseases of durian, and durian-decline syndrome in northern Queensland, Australia. p. 143-151. In: Drenth A., and D. I. Guest. Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. ACIAR Monograph 114.

Gond, S. K., M. S. Bergen, M. S. Torres, and J. F. J. White. 2015. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defense gene expression in maize. Microbiological Research. 172: 79-87.

Grosch, R., H. Junge, B. Krebs, and H. Bochow. 1999. Use of *Bacillus subtilis* as a biocontrol agent III influence of *Bacillus subtilis* on fungal root diseases and on yield in soilless culture. Journal of Plant Diseases and Protection. 106: 568-580.

Guo, D., C. Yuan, Y. Luo, Y. Chen, M. Lu, G. Chen, G. Ren, C. Cui, J. Zhang, and D. An. 2020. Biocontrol of tobacco black shank disease (*Phytophthora nicotianae*) by *Bacillus velezensis* Ba168. Pesticide Biochemistry and Physiology. 165: 104523. Available: https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.01.004. Accessed Mar. 18, 2024.

Han, X., D. Shen, Q. Xiong, B. Bao, W. Zhang, T. Dai, Y. Zhao, R. Borriss, and B. Fan. 2021. The plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* FZB42 controls the soybean pathogen *Phytophthora sojae* due to bacilysin production. Apply and Environment Microbiology. 87: 0120121. Available: http://doi.org/ 10.1128/AEM.01601-21. Accessed Mar. 10, 2024.

Hakizimana, J. D., M. Gryzenhout, T. A. Coutinho, and van den. N. Berg. 2011. Endophytic diversity in *Persea americana* (avocado) trees and their ability to display biocontrol activity against *Phytophthora cinnamomic.* In Proceedings VII World Avocado Congress 5-9 September 2011. Cairns, Australia.

Hardham, A. R., and L. M. Blackman. 2018. *Phytophthora cinnamomic*. Molecular Plant Pathology. 19: 260-285.

He, H., Q. Zhai, Y. Tang, X. Gu, H. Pan, and H. Zhang. 2022. Effective biocontrol of soybean root rot by a novel bacterial strain *Bacillus siamensis* HT1. Physiological and Molecular Plant Pathology. 125: 2023.101984. Available: https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101984. Accessed Mar. 10, 2024.

Islam, S. M. A., R. K. Math, J. M. Kim, M. G. Yun, J. J. Cho, E. J. Kim, Y. H. Lee, and H. D. Yun. 2010. Effect of plant age on endophytic bacterial diversity of balloon flower (*Platycodon grandiflorum*) root and their antimicrobial activities. Current Microbiology. 61: 346-356.

Ji, P., H. L. Campbell, J. W. Kloepper, J. B. Jones, T. V. Suslow, and M. Wilson. 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. Biological Control. 36: 358-367.

Khan, M. S., J. Gao, X. Chen, M. Zhang, F. Yang, Y. Du, T. S Moe, I. Munir, J. Xue, and X. Zhang. 2020. The endophytic bacteria *Bacillus velezensis* Lle-9, isolated from *Lilium leucanthum*, harbors antifungal activity and plant growth-promoting effects. Journal Microbiology and Biotechnology. 30: 668-680.

Kilian, M., U. Steiner, B. Krebs, H. Junge, G. Schmiedeknecht, and R. Hain. 2000. FZB24® *Bacillus subtilis* – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer. 1: 72-93.

Kim, M. J., C. K. Shim, and J. H. Park. 2021. Control efficacy of *Bacillus velezensis* AFB2-2 against potato late blight caused by *Phytophthora infestans* in organic potato cultivation. Plant Pathology Journal. 37: 580-595.

Kongtragoul, P., K. Ishikawa, and H. Ishii. 2021. Metalaxyl resistance of *Phytophthora palmivora* causing durian disease in Thailand. Horticulture. 7: 375.

Lebsing, P., A. Wongcharoen, and S. Saepaisan. 2021. Control of tomato seed disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using fungicides and antagonistic fungi. Khon Kaen Agriculture Journal. 49: 956-966.

Li, H., X. Wang, M. Han, Z. Zhao, M. Wang, Q. Tang, C. Liu, B. Kemp, Y. Gu, Y. Shuang, and Y. Xue. 2012. Endophytic *Bacillus subtilis* ZZ120 and its potential application in control of replant diseases. African Journal of Biotechnology. 11: 231-242.

Mahapatra, S., R. Yadav, and W. Ramakrishna. 2022. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. Journal Apply Microbiology. 132: 3543-3562.

Masanto, A. W., T. Joko, S. Subandiyah, and K. Kageyama. 2020. The antagonistic potential of endophytic bacteria against *Phytophthora palmivora* causes black pod rot disease on Cacao (*Theobroma cacao* L.) in Indonesia. Plant Pathology Journal. 19: 22-41.

Maslennikova, D., I. Koryakov, R. Yuldashev, I. Avtushenko, A. Yakupova, and O. Lastochkina. 2023. Endophytic plant growth-promoting bacterium *Bacillus subtilis* reduces the toxic effect of cadmium on wheat plants. Microorganisms. 11: 1653. Available: https://doi.org/10.3390/microorganisms11071653. Accessed Mar. 16, 2024.

Mayachiew, P., and S. Devahastin. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. LWT-Food Science and Technology. 41: 1153-1159.

Mmbaga, M. T., and G. A. Maheshwari. 2018. Screening of plant endophytes as biological control agents against root rot pathogens of pepper (*Capsicum annum* L.). Journal Plant Pathology Microbiology. 9: 435. Available: http://doi.org/10.4172/2157-7471.1000435. Accessed Mar. 10, 2024.

Ngo, V. A., S. L. Wang, V. B. Nguyen, C. T. Doan, T. N. Tran, D. M. Tran, T. D. Tran, and A. D. Nguyen. 2020. *Phytophthora* antagonism of endophytic bacteria isolated from roots of black pepper (*Piper nigrum* L.). Agronomy.10: 286. Available: http://doi.org/10.3390/agronomy10020286. Accessed Mar. 20, 2024.

Nicholson, W. L., N. Munakata, G. Horneck, H. J. Melosh, and P. Setlow. 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiology Molecular Biology Reviews. 64: 548-572.

Park, B. R., H. J. Son, J. H. Park, E. K. Kim, S. J. Heo, H. R. Youn, Y. M. Koo, A. Y. Heo, H. W. Choi, M. K. Sang, S. W. Lee, S. H. Choi, and J. K. Hong. 2021. Chemical fungicides and *Bacillus siamensis* H30-3 against fungal and oomycete pathogens causing soil-borne strawberry diseases. Plant Pathology Journal. 37: 79-85.

Puig, A. S., W. Qiuntanilla, T. Matsumoto, L. Keith, O. A. Gutierrez, and J. P. Marelli. 2021. *Phytophthora palmivora* causing disease on *Theobroma cacao* in Hawaii. Agriculture. 11: 396.

Siddique, M. I., H. Y. Lee, N. Y. Ro, K. Han, J. Venkatesh, A. M. Solomon, A. S. Patil, A. Changkwian, J. K. Kwon, and B. C. Kang. 2019. Identifying candidate genes for *Phytophthora capsica* resistance in pepper (*Capsicum annuum*) via genotyping-by-sequencing-based QTL mapping and genome-wide association study. Scientific Reports. 9: 1-15.

Simamora, A. V., M. V. Hahuly, and J. B. D. Henuk. 2021. Endophytic fungi as potential biocontrol agents of *Phytophthora palmivora* in the cocoa plant. Biodiversitas. 22: 2601-2609.

Somnuek, S., P. Kongtragoul, and T. Jaenaksorn. 2023. Fungicide resistance of *Phytophthora palmivora* causing durian disease in eastern and southern Thailand and the in vitro control by cajeput leaf extracts. International Journal of Agricultural Technology. 19: 703-720.

Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology. 56: 845-857.

Syed-Ab-Rahman, S. F., L. C. Carvalhais, E. Chua, Y. Xiao, T. J. Wass, and P. M. Schenk. 2018. Identification of soil bacterial isolates suppressing different *Phytophthora* spp. and promoting plant growth. Frontiers in Plant Science 9: 1502. Available: http://doi.org/10.3389/fpls.2018.01502. Accessed Mar. 19, 2024.

Vawdrey, L. L., M. Male, and K. R. E. Grice. 2015. Field and laboratory evaluation of fungicides for the control of *Phytophthora* fruit rot of papaya in far north Queensland, Australia. Crop Protection. 67: 116-120.

White, J. F., M. S. Torres, R. F. Sullivan, R. E. Jabbour, Q. Chen, M. Tadych, I. Irizarry, M. S. Bergen, D. H. Frenkel, and F. C. Belanger. 2014. Microscopy research and technique: occurrence of *Bacillus amyloliquefaciens* as a systemic endophyte of vanilla orchids. Microscopy Research and Technology. 77: 874-885.