รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุดปี 2555

1. **ชุดโครงการวิจัย 75** วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

2. **โครงการวิจัย 213** วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี

   กิจกรรม 3 การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

   กิจกรรมย่อย 3.1 การผลิตและการใช้แบคทีเรียควบคุมโรคพืช

3. **ชื่อการทดลอง** การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. สาเหตุโรคยางไหล

   Screening of Antagonistic Bacterias for Control Gummy Stem Blight caused by *Didymella bryonia*e (Auersw.) Rehm.

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง ทัศนาพร ทัศคร

   ผู้ร่วมงาน ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล

   ธารทิพย ภาสบุตร พีระวรรณ พัฒนวิภาส

   กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ. สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างพืช พบว่า สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากส่วนของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท และแยกได้จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท ในปี 2554 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection จำนวน 40 ไอโซเลท และ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากส่วนของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท รวม 54 ไอโซเลท ผลการทดลองในปี 2554 สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี ทั้งหมด 34 ไอโซเลท และในปี 2555 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท ผลการทดลอง พบว่า สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ดี ทั้งหมด 64 ไอโซเลท ซึ่งในการทดลองต่อไปจะนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อยู่ในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยการวัดขนาดการสร้าง clear zone ที่กว้าง และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท จำนวน 14 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

6. คำนำ

โรคยางไหล (Gummy Stem Blight) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. เป็นโรคสำคัญที่พบมีการระบาดและเข้าทำลายในพืชตระกูลแตง ประเทศไทยพบมีการระบาดในพืชตระกูลแตง ในพื้นที่ปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะอาการของโรคเริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ซึ่งด้วยลักษณะอาการของโรคเช่นนี้ จึงได้มีการตั้งชื่อโรคตามอาการโรคที่พบ คือ โรคยางไหล ถ้าโรคมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก ต้นจะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง บางครั้งเกษตรกรจึงรีบเก็บผลผลิตก่อน ทั้งที่แตงยังสุกไม่เต็มที่ทำให้ผลผลิตของแตงไม่ได้คุณภาพ (ทัศนาพรและพีระวรรณ, 2552)

ลักษณะอาการของโรคยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนทีเป็นแผลจะบุ๋มลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ วงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *D. bryoniae* สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชที่เป็นโรค โดยอาศัยอยู่ใน perithecium เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือ มีความชื้นสูง perithecium ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะเจริญแล้วสร้าง และปล่อย conidia ออกมา และ conidia นี้สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน หรือระบบการให้น้ำ

วงจรการเกิดโรค เนื่องจากเชื้อรา *D. bryoniae* ที่สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) อยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชที่เป็นโรค โดยอาศัยอยู่ใน pycnidia เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือ มีความชื้นสูง pycnidia ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะเจริญแล้วสร้าง และปล่อย conidia ออกมา และ conidia นี้สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน หรือระบบการให้น้ำ Sudisha และคณะ (2005) ได้ทดสอบผลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *T. hazianum* และ*Pseudomonas fluorescens* ใน

การควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้และเพิ่มผลผลิตของแคนตาลูปด้วย Abd-El-Moity และคณะ (2009) ได้รายงานว่า การใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* , Bacillus subtilis ผสมร่วมกับเชื้อรา *T. hazianum* ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราในพืชตะกูลแตงได้ดีเช่นเดียวกัน เนื่องจากการศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อรา *D. bryoniae* โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค มีการศึกษาและนำมาใช้ได้น้อย ซึ่งจากรายงานพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ เชื้อ *Bacillus* sp. มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราในดินได้ดี และนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ แต่ในสภาพแปลงทดลองยังไม่เคยมีการศึกษา ดังนั้นเพื่อได้วิธีการควบคุมโรคยางไหลโดยชีววิธี จึงต้องมีการคัดเลือก ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
5. กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลและการแยกเชื้อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จากแหล่งปลูกในแปลงเกษตรกร โดยเก็บตัวอย่างต้นพืชที่แสดงอาการเป็นโรค นำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting method จากส่วนของขอบแผลจากพืชที่เป็นโรค โดยตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อก 10 เปอร์เซ็นต์แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงวางบนอาหารพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) ทุกขั้นตอนปฏิบัติงานโดยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส หลังจากที่มีเชื้อเจริญออกมาจากขอบแผล ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้ายเชื้อเก็บรักษาในหลอดอาหารเพื่อเป็น stock culture

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างต้นพืชที่เป็นโรค และต้นที่ปกติจากแหล่งปลูกของเกษตรกร เพื่อนำมาแยกหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี leaf washing technique และเก็บตัวอย่างดินมาแยกหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี Soil dilution plate โดยนำมาเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม เมื่อพบมีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เจริญ บนอาหารเลี้ยงเชื้อให้บันทึกลักษณะของเชื้อ และแยกเชื้อเก็บไว้ให้บริสุทธิ์

3. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคยางไหลในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ในข้อ 2 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราอายุ 5 วัน ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำมาวางตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใช้ loop ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทดสอบไอโซเลทต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร NGA อายุ 24 ชั่วโมง ลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อราสาเหตุโรค โดยขีดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้มีความยาว 1 ซ.ม. จำนวน 4 จุด ตรงข้ามกันในแนวกากบาทให้ห่างจากเชื้อรา 4 ซ.ม. วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ในแต่ละไอโซเลทเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราเพียงอย่างเดียว จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ดี มีระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เพื่อนำไปทดสอบในขั้นต่อไป

เวลาสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553

สิ้นสุด กันยายน 2555

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

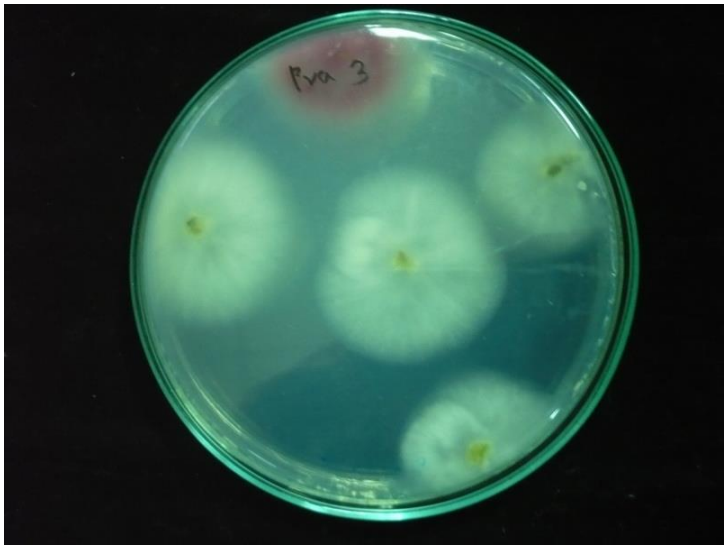
แปลงปลูกแตงของเกษตรกร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลและการแยกเชื้อ

ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จากแหล่งปลูกแตงแคนตาลูปและแตงเมล่อนที่สำคัญของเกษตรกรใน จ.สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา โดยเก็บตัวอย่างต้นพืชที่แสดงอาการเป็นโรค นำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting method พบว่าสามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากอาการดังกล่าวได้ 3 ไอโซเลท (ภาพที่ 1,2)

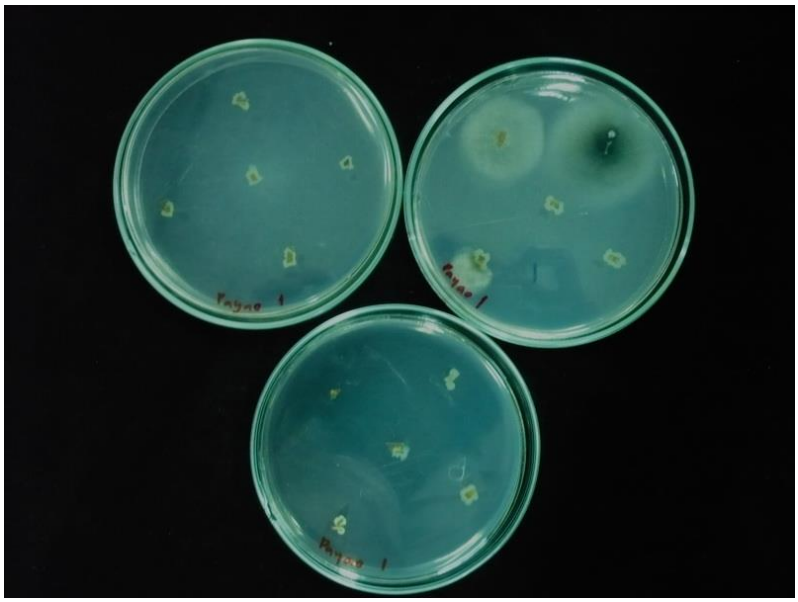
ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคต้นแตกยางไหลในแตงแคนตาลูป



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ที่แยกได้

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ได้เก็บตัวอย่างต้น และ ใบแตงแคนตาลูปและแตงเมล่อนที่เป็นโรค และต้นที่ปกติจากแหล่งปลูกของเกษตรกร เพื่อนำมาแยกหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี leaf washing technique และเก็บตัวอย่างดินมาแยกหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี Soil dilution plate โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA และ PDA ผลการทดลองพบว่า สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากส่วนของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท และแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท (ภาพที่ 3) และแยกเชื้อเก็บไว้ให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

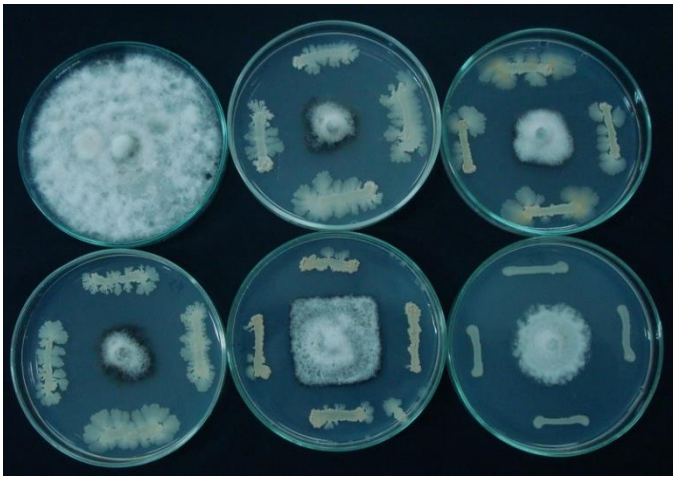


ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืช

3. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคยางไหลในห้องปฏิบัติการ

ในปี 2554 ได้ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection จำนวน 40 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท รวม 54 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทสระแก้ว ไอโซเลทสุพรรณบุรี ไอโซเลทพะเยา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยการวัดขนาดการสร้าง clear zone ที่กว้างของเชื้อแต่ละไอโซเลท และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท จากผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีทั้งหมด 34 ไอโซเลท และทำการคัดเลือกโดยแยกประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่

1 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งพบมีเพียง 2 ไอโซเลท คือ BSC07 และ BSC24 (ตารางที่ 1) กลุ่มที่ 2 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ 2 ไอโซเลท มี 14 ไอโซเลท คือ BSC04, BSC14, BSC16, BSC21, BSC23, BSC25, BSC27, BSC28, BSC32, BSC34, BSC39, BSC41, BSC49 และ BSC50 และกลุ่มที่ 3 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้เพียง 1 ไอโซเลท มีทั้งหมด 18 ไอโซเลท คือ BSC03, BSC08, BSC10, BSC11, BSC13, BSC16, BSC20, BSC22, BSC23, BSC26, BSC35, BSC36, BSC38, BSC40, BSC49, BSC51 BSC52 และ BSC53 (ภาพที่ 4)ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี จำนวน 34 ไอโซเลท จากทั้งหมด 54 ไอโซเลท และได้เก็บเชื้อไว้ให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป



ภาพที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2554

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา

BSC 01	0.77	0.54	0.00
BSC 02	0.86	0.75	0.33
BSC 03	0.53	0.96*	0.59
BSC 04	0.71	0.97	0.95**
BSC 05	0.75	0.82	0.59
BSC 06	0.00	0.00	0.00
BSC 07	0.96	1.32	1.26***
BSC 08	0.82	0.93*	0.72
BSC 09	0.74	0.86	0.54
BSC 10	0.86	0.91*	0.66
BSC 11	1.07*	0.70	0.82
BSC 12	0.83	0.69	0.69
BSC 13	1.14*	0.49	0.62
BSC 14	0.00	1.11	1.01**
BSC 15	0.00	0.00	0.68

ตารางที่ 1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2554

	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญ

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSC 16	1.13	0.92**	0.84
BSC 17	0.76	0.63	0.76
BSC 18	0.69	0.49	0.50
BSC 19	0.80	0.78	0.62
BSC 20	1.05*	0.75	0.73
BSC 21	0.70	1.06	1.26**
BSC 22	0.77	0.78	0.95*
BSC 23	0.96	0.82	1.13**
BSC 24	0.99	0.92	1.00***
BSC 25	1.10	0.93**	0.84
BSC 26	0.82	0.92*	0.78
BSC 27	1.11	0.74	1.13**
BSC 28	2.66	0.87	1.02**
BSC 29	0.79	0.77	0.56
BSC 30	0.88	0.75	0.65

ตารางที่ 1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ โรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2554

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSC 31	0.83	0.69	0.76
BSC 32	1.01	1.02**	0.60
BSC 33	0.84	0.74	0.80
BSC 34	1.02	0.96**	0.80
BSC 35	0.88	1.14*	0.73
BSC 36	0.93*	0.82	0.83
BSC 37	0.75	0.89	0.82
BSC 38	1.12*	0.78	0.89
BSC 39	1.09	0.93**	0.41
BSC 40	0.93*	0.74	0.81
BSC 41	1.00	0.97**	0.49
BSC 42	0.85	0.88	0.77
BSC 43	0.66	0.89	0.74
BSC 44	0.60	0.78	0.62
BSC 45	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2554

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSC 46	0.65	0.63	0.66
BSC 47	0.61	0.74	0.70
BSC 48	0.77	0.85	0.66
BSC 49	0.95	0.86	0.93**
BSC 50	0.94	0.90**	0.70
BSC 51	0.89	0.92*	0.73
BSC 52	1.02*	0.61	0.60
BSC 53	0.90*	0.87	0.58
BSC 54	0.89	0.77	0.86

หมายเหตุ : * = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 1 ไอโซเลท

** = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 2 ไอโซเลท

*** = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 3 ไอโซเลท

ในปี 2555 ได้ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทสระแก้ว ไอโซเลทสุพรรณบุรี ไอโซเลทพะเยา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยการวัดขนาดการสร้าง clear zone ที่กว้างของเชื้อแต่ละไอโซเลท และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท จากผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีทั้งหมด 34 ไอโซเลท และทำการคัดเลือกโดยแยกประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ทั้ง 3 ไอโซเลท มีทั้งหมด 12 ไอโซเลท คือ BSS01, BSS27, BSS29, BSS32, BSS37, BSS55, BSS58, BSS64, BSS65, BSS69, BSS75 และ BSS77 (ตารางที่ 2) กลุ่มที่ 2 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้ 2 ไอโซเลท มีทั้งหมด 25 ไอโซเลท คือ BSS04, BSS05, BSS08, BSS15, BSS16, BSS21, BSS30, BSS31, BSS34, BSS35, BSS36, BSS41, BSS43, BSS44, BSS50, BSS51, BSS52, BSS53, BSS56, BSS61, BSS62, BSS66, BSS71, BSS74, และ BSS79 (ตารางที่ 2) และกลุ่มที่ 3 คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถสร้าง clear zone ได้กว้างและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้เพียง 1 ไอโซเลท มีทั้งหมด 27 ไอโซเลท คือ BSS02, BSS03, BSS06, BSS09, BSS12, BSS18, BSS20, BSS22, BSS23, BSS24, BSS38, BSS39, BSS45, BSS46, BSS47, BSS48, BSS49, BSS54, BSS57, BSS60, BSS67, BSS68, BSS70, BSS72, BSS76, BSS78 และ BSS80 (ตารางที่ 2) ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี จำนวน 64 ไอโซเลท จากทั้งหมด 80 ไอโซเลท และได้เก็บเชื้อไว้ให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSS 01	1.46	1.39	1.71***
BSS 02	0.77	0.86	1.39*
BSS 03	0.66	0.78	1.39*
BSS 04	1.10	0.93	1.50**
BSS 05	0.82	1.47	1.64**
BSS 06	0.65	0.78	1.22*
BSS 07	1.17	1.15**	0.42
BSS 08	0.68	1.19	1.31**

BSS 09	1.18*	0.00	0.74
BSS 10	0.19	0.00	0.00
BSS 11	0.00	0.00	0.00
BSS 12	0.61	0.70	1.35*
BSS 13	0.15	0.00	0.10
BSS 14	0.24	0.00	0.17
BSS 15	0.95	1.08	1.51**

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSS 16	0.76	1.35	1.34**
BSS 17	0.87	0.61	0.72
BSS 18	0.71	0.99	1.16*
BSS 19	0.61	0.74	0.86
BSS 20	0.80	0.58	1.06*
BSS 21	0.81	1.08	1.05**

BSS 22	0.91	0.75	1.19*
BSS 23	1.02*	0.77	0.97
BSS 24	0.84	0.86	1.03*
BSS 25	0.60	0.78	0.81
BSS 26	0.00	0.00	0.00
BSS 27	1.11	1.94	1.86***
BSS 28	0.40	0.00	0.33
BSS 29	1.12	1.43	1.93***
BSS 30	2.13	0.93	1.94**

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSS 31	0.96	1.25	1.68**
BSS 32	1.08	1.54	1.63***
BSS 33	0.00	0.00	0.00
BSS 34	0.74	1.25	1.02**

BSS 35	1.68	0.99	1.57**
BSS 36	0.87	1.27	1.28**
BSS 37	1.09	1.13	1.15***
BSS 38	0.74	1.38*	0.96
BSS 39	0.58	0.75	1.04*
BSS 40	0.53	0.73	0.93
BSS 41	1.27	0.93	1.08**
BSS 42	1.26	1.00**	0.72
BSS 43	1.15	0.51	1.04**
BSS 44	1.41	0.76	1.35**
BSS 45	1.53*	0.00	0.79

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSS 46	1.64*	0.80	0.90
BSS 47	1.17*	0.76	0.80

BSS 48	1.63*	0.70	0.96
BSS 49	1.81*	0.00	0.41
BSS 50	1.48	0.65	1.24**
BSS 51	1.42	0.76	1.21**
BSS 52	1.41	0.91	1.23**
BSS 53	1.53	0.90	1.34**
BSS 54	1.28*	0.97	0.99
BSS 55	1.35	1.06	1.23***
BSS 56	1.25	1.15**	0.95
BSS 57	1.06*	0.96	0.80
BSS 58	2.18	1.41	1.09***
BSS 59	0.00	0.00	0.11
BSS 60	1.35*	0.00	0.29

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา

BSS 61	1.54	0.00	1.34**
BSS 62	1.24	1.25**	0.96
BSS 63	0.92	0.00	0.87
BSS 64	1.18	1.29	1.27***
BSS 65	1.43	1.00	1.55***
BSS 66	0.88	1.17	1.18**
BSS 67	0.60	0.00	1.26*
BSS 68	1.08*	0.00	0.00
BSS 69	1.10	1.09	1.05***
BSS 70	0.93	1.00*	0.92
BSS 71	1.24	0.00	1.31**
BSS 72	1.09*	0.00	0.15
BSS 73	0.00	0.00	0.00
BSS 74	1.43	0.76	1.17**
BSS 75	1.07	1.12	1.66***

ตารางที่ 2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *Didymella bryoniae* ทำการทดลองปี 2555

	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญ

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSS 76	0.89	0.97	2.01*
BSS 77	1.38	1.46	1.47***
BSS 78	0.88	1.19*	1.10
BSS 79	1.31	0.78	1.60**
BSS 80	0.96	0.78	1.23*

หมายเหตุ : * = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 1 ไอโซเลท

** = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 2 ไอโซเลท

*** = เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 3 ไอโซเลท

เนื่องจากในการคัดเลือกครั้งนี้มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในปี 2554 จำนวน 34 ไอโซเลท และในปี 2555 จำนวน 64 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 98 ไอโซเลท ซึ่งในการคัดเลือกเพื่อนำไปใช้ในสภาพโรงเรือนทดลองมีจำนวนมากเกินไป จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อคัดเลือกให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ดังนั้นจึงได้นำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อยู่ในกลุ่มที่ 1 ที่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท จำนวน 14 ไอโซเลท มาทดสอบอีกครั้งเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวก่อนนำไปทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กลุ่มที่ 1 จำนวน 14 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ทำการทดลองปี 2555

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ขนาด clear zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (ซ.ม.)		
	ไอโซเลทสระแก้ว	ไอโซเลทสุพรรณบุรี	ไอโซเลทพะเยา
BSC 07	1.12*	0.83	0.69
BSC 24	0.84	0.78	0.77
BSS 01	1.44	1.33	1.11***
BSS 27	1.71	1.01**	0.96
BSS 29	1.11	0.68	1.14**
BSS 32	1.46*	0.91	0.88
BSS 37	1.64	0.82	1.43**
BSS 55	1.35	0.84	1.01**
BSS 58	1.81	1.21	1.14***
BSS 64	1.51	1.21**	0.96
BSS 65	1.65	1.48	1.32***
BSS **69**	1.21*	0.67	0.73
BSS 75	1.20	0.86	1.85**
BSS 77	1.26*	0.86	0.92

9. สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการของโรคยางไหล ที่แปลงเกษตรกร จ.สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน ในปี 2554 – 2555 พบว่าสามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากส่วนของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท และแยกได้จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท ในปี 2554 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection จำนวน 40 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากส่วนของพืช จำนวน 14 ไอโซเลท รวม 54 ไอโซเลท ผลการทดลองในปี 2554 สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยการวัดขนาดการสร้าง clear zone ที่กว้างของเชื้อแต่ละไอโซเลท และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีทั้งหมด 34 ไอโซเลท

ในปี 2555 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดิน จำนวน 80 ไอโซเลท ผลการทดลองพบว่า สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโดยการวัดขนาดการสร้าง clear zone ที่กว้างของเชื้อแต่ละไอโซเลท และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีทั้งหมด 64 ไอโซเลท

ดังนั้นจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค 3 ไอโซเลท ทั้งหมด 134 ไอโซเลท สามารถคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี จำนวน 98 ไอโซเลท ซึ่งในเบื้องต้นจะนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อยู่ในกลุ่มที่ 1 จำนวน 14 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคยางไหลที่เกิดจากเชื้อรา *D. bryoniae* เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคยางไหลในสภาพโรงเรือนทดลองและแปลงทดลองต่อไป
2. จัดทำเอกสารโรคยางไหลและเชื้อสาเหตุโรค และวิธีการควบคุมโรคโดยชีววิธี โดยเผยแพร่เอกสารทางสื่อสิ่งพิมพ์และทางอินเทอร์เนต

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2552. โรคยางไหลในแคนตาลูป. จดหมายข่าวผลิใบ ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 ประจำเดือน เมษายน 2552. หน้า 2 - 3.

Abd-El-Moity, T.H, M.L Abed –El- Moneim, M.M.M. Tia, A.Z. Aly, M.R.A. Tohomy. 2009. Biological Control of some cucumber diseases under organic agriculture. เข้าถึงข้อมูลวันที่ 1 ก.ย. 2552 : http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrarnr=608_28

Sudisha, J., S. R. Niranjana, S. Umesha, H. S. Prakash and H. Shekar Shetty. 2005. Transmission of seed-borne infection of muskmelon by *Didymella bryoniae* and effect of seed treatment on disease incidence and fruit yield. Biological Control, Vol.37 Issue 2, May. P 196-205.