รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด

.....

1. ชุดโครงการวิจัย : **วิจัยและพัฒนาอารักขาพืช**

2. โครงการวิจัย : **วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี**

กิจกรรม : **การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช**

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : **การควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์**

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : **Controlling Bacterial Brown Spot on Orchids with Antagonistic Bacterial**

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : รุ่งนภา ทองเครง **สังกัด** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน : ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล **สังกัด** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ **สังกัด** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ทิพวรรณ กันหาญาติ **สังกัด** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ** : แยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากวัสดุปลูก และส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ได้จำนวน 40 ไอโซเลท นำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในห้องปฏิบัติการ ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพ จำนวน 5 ไอโซเลท คือ 1.) BVN-5 2.) BVN-9 3.) BVR-37 4.) BVS-43 และ 5.) BVB-2 นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท ไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง โดยทดสอบในกล้วยไม้สกุลแวนดา ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2, BVS-43 และ BVR-37 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVN-5 และ BVN-9 และมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ทดสอบแกรมและสปอร์ พบว่าเป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก มีสปอร์อยู่บริเวณกลางเซลล์ทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api 50 CHB พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis*

: Forty bacterial isolates were isolated from different orchid parts and planting material to screen for the antagonistic effect against *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* the causal agent of brown leaf spot of orchids *in vitro*. Five effective isolates BVN-5, BVN-9, BVR-37, BVS-43 and BVB-2 were selected for

the study on the ability to control brown leaf spot of Vanda orchids in greenhouse. The disease severity in bacterial isolates BVB-2, BVS-43 and BVR-37 treatments were significantly lower compare to BVN-5 and BVN-9 treatments and also significantly different from the application of thiram 80% WG at 20/L and the water application (untreated control). The three bacterial isolates were further characterized. All three isolates were Gram positive endospore forming bacteria. The spore locates in the middle of the cell. When tested with the api 50 CHB all isolates were identified as *Bacillus subtilis.*

6. **คำนำ** : โรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้มีสาเหตุจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (ชื่อเดิม *Pseudomonas cattleyae*) ลักษณะอาการที่พบเริ่มแรกแผลจะมีอาการฉ่ำน้ำสีเหลืองอ่อน มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลจะมีการพัฒนาขยายขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนเนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลมีการยุบตัวลงไปจากผิวใบ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ มีลักษณะแข็ง แผลมีรูปร่างไม่แน่นอน พบได้ทั้งใบแก่และใบอ่อน มีการระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน อาจจะพบลักษณะอาการอีกแบบคือ แผลสีขาว เป็นวงสีน้ำตาลหรือเทา ที่ขอบแผลชั้นกลาง จะเป็นสีดำขรุขระ รูปร่างไม่แน่นอน ขอบแผลนอกสุดมีสีเหลืองล้อมรอบ (Divinagracia *et al*., 1984) เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae subsp. cattleyae* สามารถเข้าสู่ใบกล้วยไม้ได้ทางบาดแผล (wound) ช่องเปิดธรรมชาติของใบ (hydrathods) เชื้อสามารถแพร่กระจายโดยกระเด็นไปกับน้ำที่ใช้รด โดยเฉพาะวิธีการให้น้ำด้วยระบบสปริงเกอร์จะส่งผลให้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปได้ดี (Miller, 1990) พบการระบาดในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลแวนดา (Vanda Hybrid) แคทลียา (Cattleya) ฟาแลนนอปซิส (Phalaenopsis) ซิมบิเดียม (Cymbidium) เดนโดรเบียม (Dendrobium) ม็อคคาร่า (Mokara) และออนซิเดียม (Oncidium) (Miller, 1990) ในเกือบทุกแหล่งที่มีการปลูกกล้วยไม้ ซึ่งจะพบการระบาดของโรคนี้มากในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน โดยเชื้อสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำได้ดี จากการศึกษาระบบนิเวศวิทยาเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในดินได้ระยะสั้น (นิพนธ์, 2533) เชื้อแบคทีเรียสามารถอยู่รอดในเศษซากใบกล้วยไม้ที่เกิดโรคได้ช่วงระยะหนึ่ง เมื่อเศษซากพืชดังกล่าวย่อยสลายไป เชื้อแบคทีเรียก็จะตายเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพ

การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก โดยแนะนำให้ตัดใบที่เป็นโรคออกจากต้น แล้วนำไปเผาทำลาย ลดการให้น้ำแบบสเปรย์เหนือทรงพุ่ม (overhead) เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อจากต้นที่เป็นโรคไปยังต้นอื่นๆ เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำได้ดี เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมการแพร่กระจายของโรคก็จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว มีรายงานการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชในกลุ่มสเตร็ปโตมัยซินซัลเฟต ผสมออกซีเตทตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์หรือ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ หรือ คิวปริคออกไซด์ เมื่อเริ่มพบอาการของโรคบนใบกล้วยไม้ (Miller, 1990) ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อสาเหตุได้โดยตระหนักถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมและช่วย

แก้ปัญหาการดื้อสารเคมีของศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการพิจารณาใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืชแก่เกษตรกร ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อคัดเลือกหาเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในระดับห้องปฏิบัติการ และเรือนปลูกพืชทดลอง และพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดในสภาพแปลงปลูกทดลอง

7. **วิธีดำเนินการ** :

- อุปกรณ์

1. กล้วยไม้พันธุ์แวนดา
2. แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*
3. อาหารที่ใช้ในการทดสอบและจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เช่น PSA , NGA, King' medium B agar เป็นต้น
4. สารเคมีไทแรม (Thiram) (สารเคมีเปรียบเทียบ)

- วิธีการ

1. การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากวัสดุปลูก และส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้

1.1 การแยกเชื้อจากวัสดุปลูก แช่วัสดุปลูกจำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดย วิธี tenfold serial dilution ตั้งแต่ 10^{-1}-10^{-6} จากนั้นนำสารละลายที่ได้ 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-2}, 10^{-4} และ 10^{-6} มากระจายบนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อมีเชื้อเจริญที่บริเวณผิวหน้าอาหาร ทำการบันทึกลักษณะและเลือกเก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะแตกต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 การแยกเชื้อจากส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ นำส่วนราก ใบ และดอกของกล้วยไม้จากแปลงปลูกกล้วยไม้เกษตรกร มาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ด้วยวิธี leaf wash technique โดยหั่นส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ให้เป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร หยด tween 80 1-2 หยด นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยในแต่ละส่วนมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^{-3} และ10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจายบนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อมีเชื้อเจริญที่บริเวณผิวหน้าอาหาร ทำการบันทึกลักษณะและเลือกเก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะแตกต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม เก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 40 ไอโซเลท มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการผลิตสาร secondary metabolites ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ด้วยวิธี disc diffusion method โดยเลี้ยงเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เตรียม cell suspension โดยปรับค่าความขุ่นของเซลล์ให้มีความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ดูด suspension ของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในขวดที่บรรจุอาหาร NGA ที่หลอมไว้อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง วางกระดาษกรองเบอร์ 1 (paper disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA ที่มีเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ผสมจานละ 5 ชิ้น ดูด suspension แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง โดยหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวเปรียบเทียบ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ทำ 4 ซ้ำ วัดความกว้างของบริเวณใส (clear inhibition zone) คำนวณหาค่าเฉลี่ย หลังปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* เพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาพเรือนทดลองต่อไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในเรือนปลูกพืชทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้กล้วยไม้สกุลแวนดา วางแผนการ ทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 15 กระถาง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ BVN-5

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ BVN-9

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ BVR-37

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ BVS-43

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ BVB-2

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อและใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อและใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

3.1 การเตรียมเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สำหรับปลูกเชื้อบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Wakomoto's medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องspectrophotometor ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 (1.0×10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร) ปลูกเชื้อทดสอบด้วยวิธีสเปรย์สารละลายเชื้อแบคทีเรียบนต้น

กล้วยไม้ และใช้ถุงพลาสติกที่สเปรย์น้ำคลุมต้นกล้วยไม้เพื่อเพิ่มความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำถุงพลาสติกออก

3.2 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำสารละลายเชื้อที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนนำไปสเปรย์ให้ทั่วต้นกล้วยไม้ และใช้ถุงพลาสติกที่สเปรย์น้ำคลุมต้นกล้วยไม้เพื่อเพิ่มความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำถุงพลาสติกออก

2. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ ในสภาพเรือนทดลอง ทดสอบแกรม และการสร้างสปอร์ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api 50 CHB

การบันทึกข้อมูล

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของทุกใบในแต่ละต้น จำนวน 15 ต้นต่อซ้ำ โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 ใบไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 2 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 11-25 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 6 ใบปรากฏอาการของโรคมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ใบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าการประเมินระดับความรุนแรงของโรคที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและทำการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีทางสถิติ

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2557 สิ้นสุด กันยายน 2558

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. **ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง** : จากผลการทดลองสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากวัสดุปลูก และส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ ได้เชื้อแบคทีเรียจำนวน 40 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 40 ไอโซเลท ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลในห้องปฏิบัติการ พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มี

ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 5 ไอโซเลท คือ 1.) BVN-5 2.) BVN-9 3.) BVR-37 4.) BVS-43 และ 5.) BVB-2 จึงนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลทดังกล่าว ไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ซึ่งได้ทำการทดสอบในกล้วยไม้สกุลแวนดา วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 15 กระถาง ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2, BVS-43 และ BVR-37 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) (ผลการทดลองตารางที่ 1) เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ ในสภาพเรือนทดลองทั้ง 3 ไอโซเลท ทดสอบแกรม พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียติดสีแกรมบวกทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อทดสอบการสร้างสปอร์ พบว่าสปอร์อยู่บริเวณกลางเซลล์ทั้ง 3 ไอโซเลท และตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api 50 CHB ผลการทดสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท เป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* (ผลการทดลองตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในเรือนปลูกพืชทดลอง

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงของการเกิดโรค
กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVN-5	4.535 cd [1/]
กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	4.635 cd

	BVN-9	
กรรมวิธีที่ 3	ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVR-37	3.468 b
กรรมวิธีที่ 4	ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVS-43	3.250 ab
กรรมวิธีที่ 5	ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVB-2	3.100 a
กรรมวิธีที่ 6	ปลูกเชื้อและใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	4.315 c
กรรมวิธีที่ 7	ปลูกเชื้อและใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)	4.683 d
CV (%)		2.080

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ปรากฏอยู่ในแต่ละคอลัมน์แตกต่างกัน หมายถึง ข้อมูลดังกล่าวมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีDuncan’s New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและการตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api 50 CHB ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ไอโซเลท	การทดสอบแกรม	ทดสอบการสร้างสปอร์	ตรวจด้วยชุดตรวจ api 50 CHB
BVR-37	บวก	สปอร์อยู่กลางเซลล์	*Bacillus subtilis*
BVS-43	บวก	สปอร์อยู่กลางเซลล์	*Bacillus subtilis*
BVB-2	บวก	สปอร์อยู่กลางเซลล์	*Bacillus subtilis*

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ : ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาล ในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลอง จำนวน 3 ไอโซเลท จากผลการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและการตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป api 50 CHB พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : 1. ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้

2. ได้วิธีการควบคุมและการป้องกันกำจัดโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่มีประสิทธิภาพ

11. เอกสารอ้างอิง :

นิพนธ์ ทวีชัย. 2533. **นิเวศวิทยาของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เหลืองพังงาน (นามแฝง). 2552. ปัญหาโรคเน่าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. **วารสารข่าวสมาคมชาวสวนกล้วยไม้.** 8: 6-9.

Miller, J.W. 1990. Bacterial brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae.* **Plant Pathology Circular** 330.