รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. ชื่อแผนงานวิจัย : แผนบูรณาการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตผลเกษตร

2. โครงการวิจัย : เทคโนโลยีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อรักษาคุณภาพเงาะพันธุ์โรงเรียน

3. ชื่อการทดลอง : การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน
Control of Fruits Rot Disease of Rambutan cv. Rongrien by Bacterial Antagonist

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : บุญญวดี จิระวุฒิ สังกัด กวป.

ผู้ร่วมงาน : รัตตา สุทธยาคม สังกัด กวป.

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย สังกัด กวป.

5. **บทคัดย่อ**

โรคผลเน่าของเงาะ สาเหตุเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, *Gliocephalotrichum* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. เป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้คุณภาพของผลเงาะลดลง อายุการเก็บรักษาสั้น งานวิจัยนี้เพื่อพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน ดำเนินการวิจัยที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 - กันยายน 2562 โดยนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 มาพัฒนาชีวภัณฑ์ 2 สูตร เก็บชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 มีส่วนประกอบ แป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำตาลทราย 10 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร มีอัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูงที่สุด DL9, DL7 และ PN10 มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 9.36×10^8, 6.57×10^8 และ 1.96×10^8 cfu/g ตามลำดับ เมื่อนำชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียไปควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตร1 ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุด มีการเกิดโรคผลเน่า 25.33 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 9.33 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับน้ำ(กรรมวิธีควบคุม) มีการเกิดโรคผลเน่า 64.00 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 26.67 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก: แบคทีเรียปฏิปักษ์ ชีวภัณฑ์ โรคผลเน่า เงาะ

Abstract

Fruit rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae, Gliocephalotrichum* spp. *Colletotrichum gloeosporioides, Pestalotiopsis* sp. and *Phomopsis* sp. Is the major problem to reduce quality and shelf life of harvested. This research was conducted to determine the

effectiveness of bio-agent formulation to control fruit rot disease in rambutan cv. Rongrien. The experiments were carried out at Post-harvest and Processing Research and Development Office from October 2017 to September 2019. Bacterial antagonist 3 strains (*Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 and *Bacillus siamensis* DL7) were individually developed into 2-different powder formulations. After 6 months storage at room temperature, the result showed that the formulation of 100 g rice flour mixed with 10 g sugar and 1 ml soybean oil was the best carrier to maintain bacterial survival. The survivals of DL9, DL7 and PN10 were 9.36 x 10^8, 6.57 x 10^8 and 1.96 x 10^8 cfu/g respectively. Then the bio-agent formulation, *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 was the most efficiency to control fruit rot disease. The result showed that isolate of DL9 at 10 g/l had disease incident by 25.33 and disease index by 9.33 %, whilst water treatment (control) had disease incident by 64.00 and 26.67 % of disease index.

Keywords: bacterial antagonist, biocontrol agent, fruit rot disease, Rambutan

6. คำนำ

เงาะ อยู่ในวงศ์ Sapindaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nephelium lappaceum* L. เป็นผลไม้ในเขตร้อน โดยทั่วไปเงาะเจริญเติบโตดีในบริเวณที่มีความชื้นค่อนข้างสูง ในประเทศไทยนิยมปลูกในบริเวณภาคตะวันออกและภาคใต้ สาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตเสื่อมสภาพ เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิดและทำให้เกิดอาการผลเน่า (สมศิริและคณะ, 2540) เชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ คือ *Lasiodiplodia theobromae, Gliocephalotrichum* spp., *Greeneria* sp., *Colletotrichum gloeosporioides, Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp. (บุญญวดี และสุภา, 2552) เชื้อราสามารถดำรงชีวิตอยู่บนเศษซากพืชและผลเงาะที่เน่าเสียในสวน โคนิเดียของเชื้อรา แพร่กระจายโดยลมและฝน เมื่อเชื้อราเข้าทำลายผลเงาะ อาการเริ่มแรกจะเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อนขยายไปตามเปลือกของผลเงาะ ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำอย่างรวดเร็ว บางผลมีการสร้างเส้นใยสีเทาฟูหรือเส้นใยสีขาวบนผลเงาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ ซึ่งจะทำให้มีลักษณะอาการของโรคแตกต่างกัน ลักษณะภายในผลเงาะระยะแรกอาการไม่รุนแรง เปลือกเงาะด้านในเป็นสีน้ำตาลเหลืองขยายลามใกล้เคียงกับเปลือกที่แสดงอาการด้านนอก เนื้อเงาะจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลอมเหลือง เนื้อจะนิ่มและเละ (บุญญวดี, 2557)

การควบคุมโรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวมีหลายวิธีที่มีความปลอดภัย เช่น การใช้สารปลอดภัย อุณหภูมิต่ำ โอโซน ไคโตซาน และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เป็นต้น ในปัจจุบันให้ความสำคัญกับการลดการใช้สารเคมีในขบวนการผลิตตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค ปัจจุบันมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์หลายชนิด มาพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบของชีวภัณฑ์ เนื่องจากการผลิตในรูปแบบชีวภัณฑ์จะทำให้เกิดความสะดวกต่อการนำไปใช้ ตัวอย่างชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Bacillus subtilis* ได้แก่ ลาร์มิน่า® *Pseudomonas fluorescens* ได้แก่ Top A506® และ *Streptomyces griseoviridis* ได้แก่ Mycostop® โดยในแต่ละสูตรของ

เชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน ส่วนประกอบของสูตรชีวภัณฑ์ คือ **1) สารพา (carrier)** สามารถแบ่งเป็นสารอนินทรีย์ เช่น vermiculite, clay, calcium sulphate, mineral soil และสารอินทรีย์ เช่น น้ำมันพืช ขี้เลื่อย รำข้าวสาลี แป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น โดยทั่วไปสารพามีลักษณะเป็นสารเฉื่อยและทำหน้าที่เป็นตัวพาเชื้อจุลินทรีย์ให้กระจายตัวอย่างทั่วถึง เมื่อนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปใช้งาน สารพาจะเป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ **2) สารเชื่อม (Binder)** ช่วยในการจับตัวของสารพาและจะถูกเติมลงไปในระหว่างกระบวนการผลิตสูตรสำเร็จในรูปเม็ด มีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันเซลล์ สารเชื่อมโดยทั่วไปมีสมบัติละลายน้ำและมีความหนืดต่ำ สารเชื่อมที่นิยมใช้ ได้แก่ แป้ง กลูโคส เด็กซ์แตรน เจลลาติน กากน้ำตาล เมทิลเซลลูโลส เป็นต้น **3) สารป้องกันเซลล์ (protectant)** ในกระบวนการทำแห้ง มีการเติมสารป้องกันเซลล์ เพื่อป้องกันปฏิกิริยาของโปรตีนและเซลล์ที่มีชีวิต Takeuchi (2000) ศึกษาการเติมสารป้องกันเซลล์ในกระบวนการทำแห้งสูตรสำเร็จ พบว่า สารป้องกันเซลล์ได้แก่ สารอัลจิเนต-ไคโตซาน สารละลายแลคโตส โซเดียมอัลจิเนต และสารละลายกรดอะซิตริก ไคโตซาน สารเหล่านี้ มีส่วนช่วยสูตรสำเร็จสามารถเก็บได้นานขึ้น การควบคุมโรคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นอีกแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคที่มีความปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค จากการศึกษาของบุญญวดีและคณะ (2560) พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคผลเน่า ได้ 57.82, 55.82 และ 52.97 % ตามลำดับ และสารสกัดหยาบของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง ซึ่งมีลักษณะของเซลล์ใกล้เคียงกับเซลล์ของมนุษย์ และได้นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ มาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ผง 3 รูปแบบ หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ชีวภัณฑ์สูตรที่มีส่วนผสม แป้งข้าวเจ้า 100 กรัม. น้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร. และซูโครส 10 กรัม. มีอัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ PN10, DL7 และ DL9 สูง เท่ากับ 7.55×10^8, 3.73×10^8 และ 8.53×10^7 cfu/g ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดีเช่นเดียวกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์โดยตรง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 และหาอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียนทดแทนการใช้สารเคมี เพื่อลดการเน่าเสีย ยืดอายุการเก็บรักษา และส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลเงาะพันธุ์โรงเรียน
2. เอทิล แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol), โพคลอราช (prochrolaz), คลอร็อกซ์ (Clorox),
3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Agar (PDA) , อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย NA (Nutrient Agar), TSB (Tryptic Soy Broth)
4. น้ำมันถั่วเหลือง แป้งข้าวเจ้า น้ำตาลทราย ปลายข้าว เมทิลเซลลูโลส
5. จานเลี้ยงเชื้อ กระบอกตวง บีกเกอร์ หลอดทดลอง

6. เข็มเขี่ยเชื้อ ปากคีบ กรรไกร มีด
7. ตะกร้า ถุงพลาสติก ถังพลาสติก
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. พาราฟิลม์ กระดาษทิชชู กระดาษหนังสือพิมพ์ กระดาษฟาง
11. ปิเปตต์ (pipettes)
12. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
13. ตู้ฆ่าเชื้อแบบความร้อนแห้ง (Hot air oven)
14. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
15. นาฬิกาจับเวลา
16. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (Texture analyzer ยี่ห้อ Chatillon รุ่น 10 LBF)
17. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (Digital refractometer ยี่ห้อ Atago รุ่น 10 PAL)

วิธีการ

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปแบบสารชีวภัณฑ์

เตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรคผลเน่าของเงาะ 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 (จากการทดลอง: การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อลดความสูญเสียของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว) โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว tryptic soy broth (TSB) 300 มิลลิลิตร เขย่า 130 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำไปตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง 3,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำเฉพาะเซลล์ของแบคทีเรียมาทำการเจือจางความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้มีค่า OD เท่ากับ 1 ที่ความยาวของคลื่นแสง 600 นาโนเมตร

เตรียมส่วนผสมของชีวภัณฑ์ จำนวน 2 สูตร

สูตรที่ 1 นำแบคทีเรีย 20 มิลลิลิตร มาผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตร เขย่า 20 นาที หลังจากนั้นนำไปผสมกับแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำตาลทราย 10 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร คลุกให้เข้ากัน (ดัดแปลงสูตรของณิชกานต์, 2554)

สูตรที่ 2 นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ 20 มิลลิลิตร มาผสมกับเมทิลเซลลูโลส 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่า 20 นาที หลังจากนั้นนำไปผสมกับปลายข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 100 กรัม (ดัดแปลงสูตรของ ไก่แก้วและนิพนธ์, 2559)

หมายเหตุ

- สารทุกชนิดนำมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องอบความชื้นความดันสูง (autoclave) 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที จำนวน 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งห่างกัน 1 วัน

- นำส่วนผสมในแต่ละสูตรไปทำให้แห้ง โดยใช้เตาอบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาบดให้ละเอียด นำชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรต่างๆ ที่ผลิตได้แบ่งใส่ถุงฟอยล์ 15 กรัม/ถุง เก็บที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

บันทึกผล ปริมาณของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในชีวภัณฑ์

นำชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรต่างๆ ทำการตรวจปริมาณของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ระหว่างการเก็บรักษา ทุก 1 เดือน ด้วยวิธี dilution plate count (ผงเชื้อสูตรสำเร็จ 1 กรัม ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร) แล้วนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย 100 ไมโครลิตร มาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร จำนวนความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย หลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25$\pm$2 องศาเซลเซียส) ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน

2. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ

คัดผลเงาะที่สมบูรณ์ พ่นผลเงาะด้วยสารละลายชีวภัณฑ์แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ โดยการเตรียมชีวภัณฑ์ 2 สูตร นำมาผสมกับน้ำ อัตรา 10 กรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับการพ่นผลเงาะด้วยน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) และ โพรคลอราซ 500 มิลลิกรัม/ลิตร ผึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติก LDPE ที่มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 12,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/วัน (ถุงพลาสติกยืดอายุM4) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำ)	กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตรที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 โพรคลอราซ 500 มก./ล.	กรรมวิธีที่ 6 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตรที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย PN10 สูตรที่ 1	กรรมวิธีที่ 7 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 1
กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย PN10 สูตรที่ 2	กรรมวิธีที่ 8 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 2

<u>บันทึกผล</u> การเกิดโรคโดยนับจำนวนผลเงาะที่เป็นโรคผลเน่า (%) และความรุนแรงของโรคโดยประเมินอาการของโรคผลเน่าบนผลเงาะ แล้วนำมาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index)

ประเมินการเกิดโรค โดยแบ่งระดับความรุนแรง เป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่เกิดโรคผลเน่าของเงาะหรือ ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 1 = พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลเงาะ = 1- 10 %
ระดับ 2 = พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลเงาะ = 11- 30 %
ระดับ 3 = พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลเงาะ = 31- 50 %
ระดับ 4 = พบลักษณะอาการแผลเน่าบนผลเงาะ > 50 %

จากนั้นคำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ตามสูตรดังนี้ (ดัดแปลงจาก จันจิรา, 2550)

$$\% \text{ Disease Index} = \frac{(na \times 0) + (nb \times 1) + (nc \times 2) + (nd \times 3) + (ne \times 4) \times 100}{N \times 4}$$

เมื่อ na = จำนวนของผลเงาะที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 0
nb = จำนวนของผลเงาะที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1
nc = จำนวนของผลเงาะที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 2

nd = จำนวนของผลเงาะที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 3
ne = จำนวนของผลเงาะที่มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 4
N = จำนวนผลเงาะทั้งหมด

2.2 ทดสอบระดับความเข้มข้นของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่า และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บรักษา

คัดผลเงาะที่สมบูรณ์ พ่นผลเงาะด้วยสารละลายชีวภัณฑ์แบคทีเรียทีมีประสิทธิภาพ (จากการทดสอบ ข้อ 2.1) คือ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตรที่ 1 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 1 และชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 2 โดยเตรียมชีวภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ อัตรา 10 และ 20 กรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับการพ่นผลเงาะด้วยน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) และโพรคลอราช 500 มิลลิกรัม/ลิตร ผึ่งให้แห้ง หลังจากนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติก LDPE ที่มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 12,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/วัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) เปรียบเทียบ 8 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำ)

กรรมวิธีที่ 2 โพรคลอราช 500 มิลลิกรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตรที่ 1 อัตรา 10 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตรที่ 1 อัตรา 20 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 1 อัตรา 10 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 1 อัตรา 20 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 2 อัตรา 10 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตรที่ 2 อัตรา 20 กรัม/ลิตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1) การเกิดโรคโดยนับจำนวนผลเงาะที่เป็นโรคผลเน่า (%)

2) ความรุนแรงของโรคโดยประเมินอาการของโรคผลเน่าบนผลเงาะ แล้วนำมาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) (เช่นเดียวกับข้อ 2.1)

3) การสูญเสียน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บรักษา นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักก่อนเก็บรักษา – น้ำหนักหลังเก็บรักษา)}}{\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา}} \times 100$$

4) วัดความแน่นเนื้อของผลเงาะ โดยใช้เครื่อง texture analyzer ยี่ห้อ Chatillon รุ่น 10LBF

5) ปริมาณของแข็งละลายในน้ำได้ วัดด้วยเครื่อง Digital refractometer ยี่ห้อ Atago รุ่น 10 PAL ค่าที่อ่านได้มีหน่วยวัดเป็น องศาบริกซ์

2.3 คำนวณต้นทุนในการผลิตชีวภัณฑ์

คำนวณต้นมทุนในการผลิตชีวภัณฑ์จากราคาของวัตถุดิบ

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2560 – กันยายน 2562

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปแบบสารชีวภัณฑ์

การประเมินความมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ จำนวน 2 สูตร ที่ผลิตจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ คือ คือ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยประเมินความมีชีวิตรอดของแบคทีเรียทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 (แป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำตาลทราย 10 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร) ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูงที่สุด แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ DL9, DL7 และ PN10 มีจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ในเดือนที่ 6 เท่ากับ 9.36×10^8, 6.57×10^8 และ 1.96×10^8 cfu/g ตามลำดับ (Table 1) สอดคล้องกับการทดลองของณิชกานต์ (2554) พบว่าสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผง (แป้งข้าวเจ้า 1000 กรัม น้ำตาลทราย 100 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 5 มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ดีกว่าสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบสารละลายเข้มข้น และสารละลายน้ำมัน เมื่อนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง หลังการผลิต 4-6 เดือน พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีชีวิตรอดมากกว่า 75-100 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองนี้ สูตรชีวภัณฑ์ที่1 มีส่วนประกอบของ แป้งข้าวเจ้า น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำตาลทราย (ซูโครส) มีอัตราการอยู่รอดสูงของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ แป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งอาหารที่ดีของแบคทีเรียช่วยในการยึดเกาะเซลล์ แล้วยังป้องกันเซลล์จากความร้อนในระหว่างกระบวนการทำให้แห้งได้อีกด้วย เมื่อแป้งผสมกับสารแขวนลอยแบคทีเรียซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบ นำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แป้งจะมีลักษณะเป็นฟิล์มพลาสติก (แป้งเจลลาติไนซ์) ช่วยห่อหุ้มเซลล์และป้องกันเซลล์จากความร้อน และจากงานวิจัยของ Takeuchi *et. al.* (2000) การเติมสารป้องกันเซลล์ เช่น แลคโตส กลูโคส ฟรุกโตสหรือซูโครส ปริมาณ 5, 10 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเติมในสูตรสำเร็จทำให้เซลล์ยีสต์เพิ่มการมีชีวิตรอดจากเดิม 20 เป็น 30-40 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองของจันทิมา (2545) การใช้น้ำมันพืช ปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าหลังการทำแห้งมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตของ *Bacillus* spp. MK007 มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กลีเซอรอล หรือน้ำมันมะพร้าว

การบรรจุถุงฟอยด์สามารถป้องกันการซึมผ่านของไขมัน น้ำมัน และน้ำได้ดี (วุฒิชัย, 2535) ช่วยให้เชื้อลดการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการมีชีวิตรอดของเชื้อจากการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Bacillus* spp. MK007 มีแนวโน้มลดลงเพียงเล็กน้อย (จันทิมา, 2545)

Table 1 Survival or bacterial antagonists as biocontrol agent storage at room temperature for 6 months

bacteria	formulation	Number of bacterial colonies (cfus/g)					
		1st month	2nd month	3rd month	4th month	5th month	6th month
PN10	No. 1	1.67×10^8	1.56×10^8	1.62×10^8	1.57×10^8	1.26×10^8	1.96×10^8
	No. 2	4.60×10^7	8.73×10^6	1.06×10^7	1.61×10^7	1.21×10^7	1.75×10^7
DL7	No. 1	9.40×10^8	7.67×10^8	5.45×10^8	6.83×10^8	1.23×10^9	6.57×10^8
	No. 2	9.75×10^7	7.87×10^7	6.70×10^7	8.20×10^7	1.32×10^8	1.59×10^8
DL9	No. 1	5.83×10^8	6.83×10^8	4.88×10^8	5.23×10^8	9.53×10^8	9.36×10^8
	No. 2	3.98×10^7	3.53×10^7	1.22×10^7	1.47×10^7	3.03×10^7	4.63×10^7

2. ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ

ประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9, *Bacillus amyloliquefaciens* PN10 และ *Bacillus siamensis* DL7 โดยเตรียมชีวภัณฑ์ 2 สูตร พ่นบนผลเงาะเปรียบเทียบกับการพ่นน้ำ และโพรคลอราซ 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีการเกิดโรคผลเน่าและดัชนีการเกิดโรคผลเน่าของเงาะโรงเรียนมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 2) พบว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตร2 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะโรงเรียน มีการเกิดโรคผลเน่า 10.00 % และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 4.69 % รองลงมา ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL7 สูตร1 และ DL9 สูตร1 มีการเกิดโรคผลเน่า 10.00 และ 14.99 % และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 6.77 และ 8.86 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีการเกิดโรคผลเน่า 25.00 % และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 13.54 % (Table 2 and Figure 1) กลไกการควบคุมโรคผลเน่าของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ การสร้างสารปฏิชีวนะในกลุ่มของ iturin A และ surfactin (บุญญวดี และคณะ, 2561) iturin A เป็นสารปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้างในการยับยั้งเชื้อรา ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของจุลินทรีย์ชีวภาพ (biological control agent) เป็นเป้าหมายในการลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร (Hsieh *et al.*, 2008) ส่วนสารในกลุ่ม surfactin เป็นสารลดแรงตึงผิวในกลุ่ม lipopeptide โดยมีไขมันจับอยู่กับสายเปปไทด์ เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูง surfactins ไม่เป็นพิษต่อเชื้อราสาเหตุโรค มีผลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ iturin A ในการต้านเชื้อรา (Mager-Dana, *et. al.,* 1992, Kim *et al.*, 2010)

Table 2 Efficacy of biocontrol agent to control fruit rot disease storage at 13±2 °C for 14 days

Treatment	Disease incidence (%)[1]	Disease index (%)[1]
Contdrol (water)	25.00 cd	13.54 b
prochloraz 500 mg/l	6.67 a	3.13 a
Bio-agent PN10 No.1	22.14 bc	10.42 ab
Bio-agent PN10 No2	20.00 bc	11.46 ab
Bio-agent DL7 No1	10.00 ab	6.77 ab
Bio-agent DL7 No2	35.00 d	23.44 c
Bio-agent DL9 No1	14.99 abc	8.86 ab
Bio-agent DL9 No2	10.00 ab	4.69 ab
F-test	**	**
CV (%)	45.10	56.68

[1] Means in the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at 1% level by DMRT

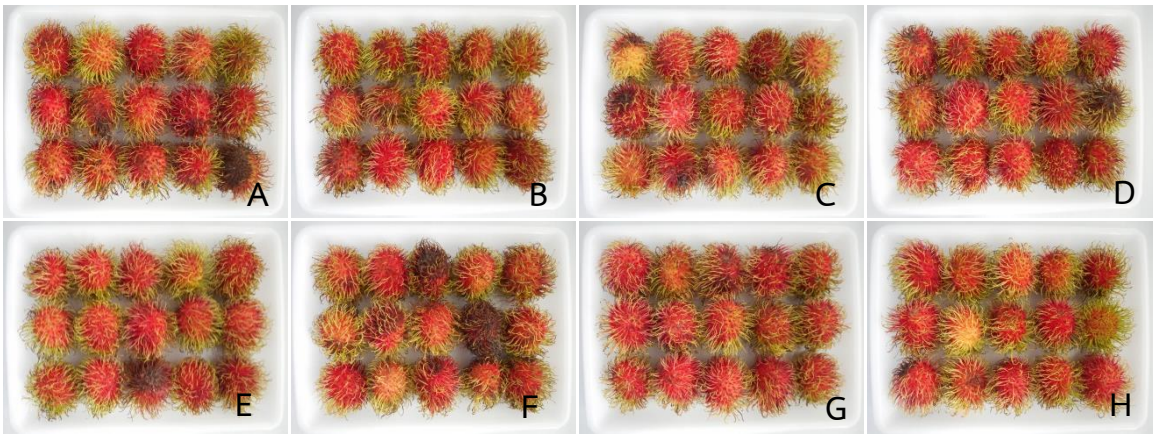

Figure 1 Efficacy of biocontrol agent to control fruit rot disease storage at 13±2 °C for 14 days

A) Contdrol (water)
B) prochloraz 500 mg/l
C) Bio-agent PN10 No.1
D) Bio-agent PN10 No.2
E) Bio-agent DL7 No1
F) Bio-agent DL7 No2
G) Bio-agent DL9 No1
H) Bio-agent DL9 No2

2.2 ทดสอบระดับความเข้มข้นของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคผลเน่า และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลเงาะหลังการเก็บรักษา

ทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 และ *Bacillus siamensis* DL7 มีอัตราการใช้ 2 ระดับ คือ 10 และ 20 กรัม/ลิตร ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน โดยการพ่นชีวภัณฑ์บนผลเงาะ เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำ และโพรคลอราช 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีการเกิดโรคผลเน่าและดัชนีการเกิดโรคผลเน่าของเงาะมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 3) พบว่า ชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ คือ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตร1 ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร มีการเกิดโรคผลเน่า 25.33 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 9.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย DL9 สูตร1 ความเข้มข้น 20 กรัม/ลิตร มีการเกิดโรคผลเน่า 26.67 และ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 11.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีการเกิดโรคผลเน่า 64.00 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคผลเน่า 26.67 เปอร์เซ็นต์ (Table 3 and Figure 2) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถนำไปใช้ในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียนหลังการเก็บเกี่ยวได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของบุญญวดี (2560) ชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ PN10 DL7 และ DL9 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดีเช่นเดียวกับการใช้เซลล์แบคทีเรียปฏิปักษ์โดยตรง และผลงานวิจัยของกฤติเดช และดุสิต (2559) พบว่าเชื้อสดของ *Bacillus suptilis* TU-Orga1 และชีวภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ TU-Orga1 มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันในการควบคุมโรคขอบใบทองโรคใบจุดอัลเทอร์นาเรีย และโรคเน่าเละของคะน้าได้ดี ซึ่งในทางปฏิบัติ เกษตรกร และผู้ประกอบการสามารถนำสารชีวภัณฑ์ไปใช้ได้สะดวกกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปเชื้อสด

Table 3 Efficacy of biocontrol agent at two levels of concentration to control fruit rot disease storage at 13±2 °C for 14 days

Treatment	Disease incidence (%)[1]	Disease index (%)[1]
Contdrol (water)	64.00 d	26.67 d
prochloraz 500 mg/l	21.33 a	6.33 a
Bio-agent DL7 No1 10 g/l	33.33 ab	14.33 abc
Bio-agent DL7 No1 20 g/l	36.00 abc	13.67 abc
Bio-agent DL9 No1 10 g/l	25.33 a	9.33 ab
Bio-agent DL9 No1 20 g/l	26.67 ab	11.33 abc
Bio-agent DL9 No2 10 g/l	54.67 cd	19.67 cd
Bio-agent DL9 No2 20 g/l	45.33 bcd	18.33 bcd
F-test	**	**
CV (%)	36.32	47.33

[1] Means in the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at 1% level by DMRT

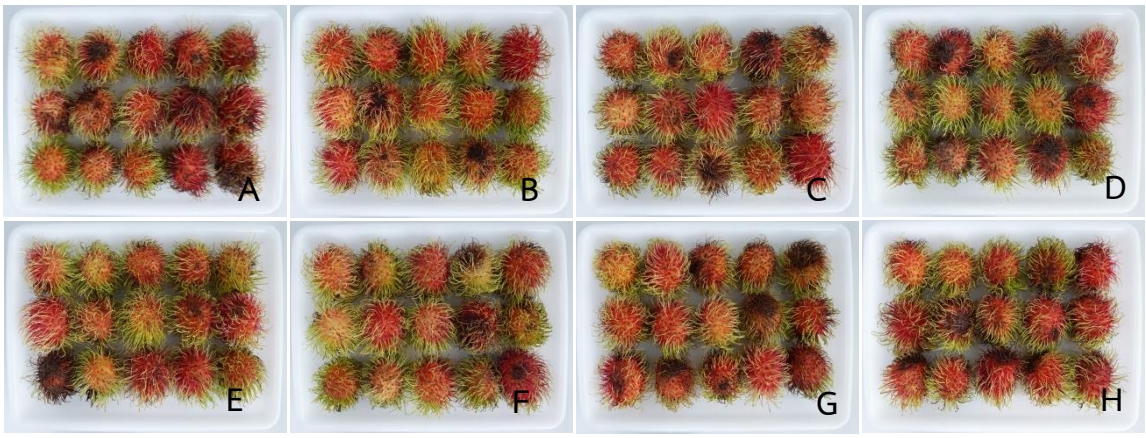

Figure 2 Efficacy of biocontrol agent at two levels of concentration to control fruit rot disease storage at 13±2 °C for 14 days

A) Contdrol (water)
B) prochloraz 500 mg/l
C) Bio-agent DL7 No1 10 g/l
D) Bio-agent DL7 No1 20 g/l
E) Bio-agent DL9 No1 10 g/l
F) Bio-agent DL9 No1 20 g/l
G) Bio-agent DL9 No2 10 g/l
H) Bio-agent DL9 No 20 g/l

ผลเงาะที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ DL 7 และ DL 9 อัตราการใช้ชีวภัณฑ์ 10 และ 20 กรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับผลเงาะที่พ่นด้วยน้ำ และ โพคลอราช 500 มิลลิกรัม/ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนักของผลเงาะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลเงาะที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีการสูญเสียน้ำหนักของผลเงาะ อยู่ในช่วง 0.53-0.61 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับผลเงาะที่พ่นด้วยน้ำ มีการสูญเสียน้ำหนักของผลเงาะ เท่ากับ 0.61 เปอร์เซ็นต์ (Table 4)

ความแน่นเนื้อของเนื้อเงาะ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ผลเงาะที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีความแน่นเนื้อของเนื้อเงาะ อยู่ในช่วง 2.89-3.31 นิวตัน เปรียบเทียบกับความแน่นเนื้อของเนื้อเงาะที่พ่นด้วยน้ำ มีความแน่นเนื้อของเนื้อเงาะ เท่ากับ 2.98 นิวตัน (Table 4)

Table 4 Effect of biocontrol agent at two levels of concentration on weight loss and firmness of chili storage at 13 °C for 14 days

Treatment	weight loss (%)	firmness (N))
Contdrol (water)	0.61	2.98
prochloraz 500 mg/l	0.51	2.81
Bio-agent DL7 No1 10 g/l	0.57	2.89
Bio-agent DL7 No1 20 g/l	0.53	3.02
Bio-agent DL9 No1 10 g/l	0.61	3.31
Bio-agent DL9 No1 20 g/l	0.58	2.99
Bio-agent DL9 No2 10 g/l	0.61	3.19
Bio-agent DL9 No2 20 g/l	0.58	3.22
CV (%)	10.99	14.67

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของผลเงาะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยผลเงาะที่พ่นด้วยชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ อยู่ในช่วง 19.10-19.56 องศาบริกซ์ ใกล้เคียงกับกรรมวิธีควบคุม มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 19.62 องศาบริกซ์ (Table 5) แสดงว่าผลเงาะที่พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลและกรดอินทรีย์

Table 5 Effect of biocontrol agent at two levels of concentration on total soluble solid of chili storage at 13 °C for 14 days

Treatment	total soluble solid (°Brix)
Contdrol (water)	19.62
prochloraz 500 mg/l	19.36
Bio-agent DL7 No1 10 g/l	19.26
Bio-agent DL7 No1 20 g/l	19.56
Bio-agent DL9 No1 10 g/l	19.40
Bio-agent DL9 No1 20 g/l	19.10
Bio-agent DL9 No2 10 g/l	19.30
Bio-agent DL9 No2 20 g/l	19.54
CV (%)	3.25

2.3 คำนวณต้นทุนในการผลิตชีวภัณฑ์

ชีวภัณฑ์สูตรที่1 ของแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะพันธุ์โรงเรียน ซึ่งชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 มีส่วนประกอบ คือ แป้งข้าวเจ้า น้ำตาลทราย และน้ำมันถั่วเหลือง การผลิตชีวภัณฑ์ 1 กิโลกรัม มีต้นทุน 46.25 บาท

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 สูตร1 ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะ

การเตรียมชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 นำแบคทีเรีย 20 มิลลิลิตร (มีค่า OD เท่ากับ 1 ที่ความยาวของคลื่นแสง 600 นาโนเมตร) มาผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตร เขย่า 20 นาที หลังจากนั้นนำไปผสมกับแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำตาลทราย 10 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร คลุกให้เข้ากัน นำไปทำให้แห้ง หลังจากนั้นนำมาบดให้ละเอียด บรรจุในถุงฟอยล์ สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นานกว่า 6 เดือน

การใช้ชีวภัณฑ์ DL9 สูตร1 มีอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 10 ลิตร สามารถนำสารละลายชีวภัณฑ์ไปใช้ได้ทั้งการพ่นให้ทั่วผล หรือจุ่มผลเงาะลงในสารละลายชีวภัณฑ์ นาน 5 นาที หลังจากนั้นผึ่งให้แห้ง บรรจุผลเงาะในถุงพลาสติก LDPE ที่มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 12,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/วัน (ถุงพลาสติกยืดอายุM4) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการเป็นข้อมูลพื้นฐาน สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่น เพื่อหาแนวทางในการควบคุมโรค เพิ่มคุณภาพของสินค้าให้มีมาตรฐาน และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

2. เกษตรกร และผู้ประกอบการสามารถนำชีวภัณฑ์ไปใช้ได้สะดวก การเก็บรักษาไม่ยุ่งยาก และมีระยะเวลานาน

12. เอกสารอ้างอิง

ไก่แก้ว สุธรรมมา และนิพนธ์ ทวีชัย. 2559. การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (Bs). [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-plant/gaigaew/plant_00.html (20 กุมภาพันธ์ 2559).

กฤติเดช อนันต์ และ ดุสิต อธินุวัฒน์. 2559. การพัฒนาชีวภัณฑ์จาก *Bacillus subtilis* TU-Orga1 เพื่อควบคุมโรคที่สำคัญของผักคะน้า. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ฉบับที่ 5 (ฉบับพิเศษ) :793-812.

จันจิรา อายะวงศ์. 2550. ชีววิทยาการเข้าทำลาย ระบาดวิทยาและถ่ายทอดผ่านเมล็ดของเชื้อรา Phaeophleospora destructans (M.J.Wingf. & Crous), F.A. Ferreira & B. Sutton. สาเหตุโรคใบไหม้ของยูคาลิปตัส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จันทิมา เจียมวิจิตร. 2545. สูตรสำเร็จเชื้อ *Bacillus* spp. MK 007 สำหรับการควบคุมเชื้อรา *Curvularia lunata* สาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 91 หน้า.

ณิชกานต์ นเรวุฒิกุล. 2554. สูตรชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคทางดินของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 109 หน้า.

บุญญวดี จิระวุฒิ และ สุภา อโนธารมณ์. 2552. การใช้สารในกลุ่ม GRAS ในการควบคุมโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะ. น. 80-96. *ใน* : การประชุมวิชาการ วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ปี 2552 28-30 มิถุนายน 2552 ณ โรงแรมฮอลิเดย์ อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช, ชะอำ, เพชรบุรี.

บุญญวดี จิระวุฒิ. 2557. โรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวและการควบคุม วารสารวิชาการเกษตร 32 (1): 89-109.

บุญญวดี จิระวุฒิ อมรา ชินภูติ รัตตา สุทธยาคม. 2560. โรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวและการควบคุมโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์. วารสารวิชาการเกษตร 35 (3): 229-242.

บุญญวดี จิระวุฒิ รัตตา สุทธยาคม และวีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย. 2561. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* และ *Bacillus siamensis*. หน้า 145-152. *ใน* เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 56 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เล่ม1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วุฒิชัย นาครักษา. 2535. หลักการบรรจุ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ อุดม ฟ้ารุ่งสาง และนวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2540. การเข้าทำลายของผลเงาะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่า และการควบคุมโรคผลเน่าภายหลังการเก็บเกี่ยว. หน้า 108-1196. ใน *รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 35 สาขาพืช* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Hsieh, F.C., T.C. Lin, M. Meng and S.S. Koa. 2008. Comparing method for identifying *Bacillus* stains capable of producing the antifungal lipopeptide iturin A. Curr Microbiol 56: 1-5.

Kim, P.I., J. Ryu, Y.H. Kim and Y.T. Chl. 2010. Production of biosurfactant lipopeptides iturin A, fengycin, and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides.* Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 138-145.

Mager-Dana, R., L. Thimin, F. Peypoux and M. Ptack. 1992. Surfactin/Iturin A interactions may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. Biochimie 74: 1047-1051.

Takeuchi, H., T. Yasuji, H. Yamamoto and Y. Kawashima. 2000. Spray-dried lactose composite particles containing an ion complex of alginate-chitosan for designing a dry-coated tablet having a time-controlled releasing function. Pharmace Research. 17:4-99.