

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่ควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโม

Screening of *Bacillus* spp. antagonistic bacteria for control bacterial fruit blotch disease and promote growth of watermelon seedling

ฐิติญา ขุนเวียงจันทร์¹ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล^{1*}

Titiya Khunwiangchan¹ and Petcharat Thummabenjapone^{1*}

¹ สาขาวิชาวิทยาและโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

¹ Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่สามารถควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียที่เกิดจากเชื้อ *Acidovorax citrulli* และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโม ดำเนินการทดลองโดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 12 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba032, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-Ba037N, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-PSK, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-B1, *Bacillus*-K1 และ *Bacillus*-K2 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ทั้งหมด 21 ไอโซเลต โดยวิธี Dual culture assay พบว่า มี 4 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้ดีที่สุด คือ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-MS4 และ *Bacillus*-NTS3 โดยมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสตั้งแต่ 7.60 – 17.73 มม. จากนั้นนำเชื้อบาซิลลัสทั้ง 4 ไอโซเลตในรูปแบบชีวภัณฑ์ชนิดผงละลายน้ำมาทดสอบระดับโรงเรือนทดลอง โดยวิธีการคลุกเมล็ด และพ่นต้นกล้า พบว่า กรรมวิธีที่สามารถควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียในระยะต้นกล้าที่ 14 วัน ได้ดีที่สุด คือ กรรมวิธีที่ใช้ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-MS4 และ *Bacillus*-Ba033 โดยค่าการเกิดโรค คือ 14.50%, 17.00% และ 18.25% ตามลำดับ ส่วนดัชนีความรุนแรงของโรค คือ 29.25%, 29.95% และ 32.75% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* เพียงอย่างเดียว มีการเกิดโรค 40% และดัชนีความรุนแรงของโรคที่ 43.75 % ชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโม ได้แก่ ความสูงต้น, น้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง ดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์ เชื้อบาซิลลัสปฏิปักษ์ที่คัดเลือกไว้ ได้แก่ ไอโซเลต Ba029, Ba033 และ MS4 จึงมีศักยภาพสูงในการนำไปวิจัยและพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียของพืชวงศ์แตงและพืชเศรษฐกิจอื่นๆ ในแปลงเกษตรกรต่อไป

คำสำคัญ: การควบคุมโรคโดยชีววิธี; *Acidovorax citrulli*; โรคผลเน่าแบคทีเรีย; *Bacillus* spp.; แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต

ABSTRACT: The objective of this research was to screen the antagonistic bacteria to control bacterial fruit blotch (BFB) caused by *Acidovorax citrulli* and promote the growth of watermelon seedlings. Eleven isolates of *Bacillus* spp. antagonistic i.e *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba032, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-Ba037N, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-PSK, *Bacillus*-S32, *Bacillus*-B1, *Bacillus*-K1 and *Bacillus*-K2 were selected for against 21 isolates of *A. citrulli* by dual culture bioassay. The results showed that 4 isolates (*Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-MS4 and *Bacillus*-NTS3) broadly inhibited the growth *A. citrulli* isolates to the maximum diameter of clear zone of 7.60 – 17.73 mm. The wettable powder bioproducts from selected 4 isolates of *Bacillus* were used to control BFB disease and promote plant growth compared by seed coating and control treatment in greenhouse conditions. The *A. citrulli* inoculated seeds and normal watermelon seeds were used. Results indicated that at 14 days after sowing,

* Corresponding author: petsir@kku.ac.th

Received: date; April 30, 2025 Revised: date; July 31, 2025

Accepted: date; August 13, 2025 Published: date; December 18, 2025

treatment using bioproducts *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-MS4 and *Bacillus*-Ba033 showed significantly decreased disease incidence as 14.50%, 17.00% and 18.25% and disease severity index as 29.25%, 29.95% and 32.75%, respectively. The control disease treatment with only *A. citrulli* showed 40% of disease incidence and 43.75%, respectively. In addition, these three isolates of *Bacillus* spp. were more effective in promoting plant growth as measured as plant height, flesh and dry weight of seedlings. Therefore, the *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033 and *Bacillus*-MS4 have high potential to develop bioproducts for biological control of bacterial fruit blotch disease and promote plant growth as well as reduce the percentage of seed-borne diseases in Cucurbitaceae.

Keyword: biological control; *Acidovorax citrulli*; bacterial fruit blotch; antagonistic; *Bacillus* spp.; plant growth promoting bacteria

บทนำ

พืชวงศ์แตง (Cucurbitaceae) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกทั่วโลก โดยมีความสำคัญทั้งทางด้านอาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เวชสำอาง และเครื่องใช้ในครัวเรือน เช่น ไยบวบสำหรับขัดผิว ซึ่งเป็นผลผลิตจากผลบวบ เป็นต้น สำหรับการผลิตพืชวงศ์แตงในประเทศไทย นอกจากผลิตเพื่อบริโภคแล้ว ยังมีการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสำหรับส่งออกต่างประเทศอีกด้วย โดยสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2567) รายงานว่า มีปริมาณการส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์แตง ในปี 2566-2567 จำนวน 534.22 ตัน และ 745.21 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,174.52 และ 2,420.81 ล้านบาท ตามลำดับ ซึ่งแนวโน้มการส่งออกมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ในกระบวนการผลิตพืชวงศ์แตงมักประสบกับปัญหาเรื่องการเข้าทำลายของเชื้อ *Acidovorax citrulli* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคผลเน่าแบคทีเรีย (Bacterial fruit blotch) โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลแตงได้หลายชนิด เช่น แตงโม แตงเทศ แตงกวา ฟักทอง และ สควีช เป็นต้น และสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะของพืช ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำให้ผลผลิตลดลงมากถึง 80% และมีความสำคัญต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์แตงเป็นอย่างมาก เนื่องจากเชื้อสามารถถ่ายทอดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้และมีชีวิตในเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนาน (Horuz and Aysan, 2018) และในการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกได้มีการกำหนดมาตรการตรวจสอบสุขภาพของเมล็ดพันธุ์พืช (Seed health testing) เพื่อประกอบการออกใบรับรองปลอดโรคพืชจึงจะสามารถส่งออกเมล็ดพันธุ์ได้ (ชัญญานุช และคณะ, 2553) ดังนั้น ในการผลิตเมล็ดพันธุ์จึงจำเป็นต้องมีแนวทางหรือวิธีการปฏิบัติต่างๆ เพื่อจัดการและควบคุมโรคพืช แต่การใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวไม่สามารถควบคุมโรคพืชได้ดีเพียงพอ จึงทำให้ต้องเปลี่ยนสารเคมีอยู่ตลอดเวลา (Ali et al., 2020) ซึ่งการใช้สารเคมีในการกำจัดโรคพืชอย่างต่อเนื่องหลายปีติดต่อกัน ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อลดการใช้สารเคมี และช่วยส่งเสริมการผลิตพืชวงศ์แตงให้ได้อย่างยั่งยืนได้ โดยไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อมนุษย์ สัตว์ และสภาพแวดล้อม การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นอีกทางเลือกสำหรับการควบคุมโดยชีววิธีที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อ สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์แบคทีเรียปกติ (Kloepper et al., 2004) นอกจากนี้ *Bacillus* spp. ยังมีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่สำคัญหลายรูปแบบ เช่น สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics) และเอนไซม์ได้ โดยสารปฏิชีวนะที่ *Bacillus* spp. สร้างขึ้นมีหลายชนิด เช่น surfactin, iturin, fengymycin, bacilysin, rhizocticin, chlorotetain และ bacitracin เป็นต้น (Fan et al., 2017; Anckaert et al., 2021) ซึ่งสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และสามารถสร้างเอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ glucanase และ chitinase ที่สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคที่มี glucans และ chitin เป็นองค์ประกอบหลัก แบคทีเรียสกุล *Bacillus* บางชนิดยังสามารถสร้างสาร siderophore ได้ ซึ่งสารดังกล่าวจะไปจับกับ ferric iron แล้วเคลื่อนย้ายเข้าสู่ตัวรับ (receptor) ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตของพืช (Ali et al., 2020) และยังสามารถไปรบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่บริเวณเดียวกัน ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชลดลง การเกิดโรคของพืชจึงลดลงด้วย (Shoda, 2000; Anckaert et al., 2021) นอกจากนี้ *Bacillus* spp. ยังมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria: PGPR) เช่น ความสูงของลำต้น, ความยาวราก และน้ำหนักแห้ง เป็นต้น (ทวินนท์ และเพชรรัตน์, 2564, Kloepper et al., 2004; Radhakrishnan et al., 2017; Anckaert et al., 2021) และชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Induce Systemic Resistant: ISR) ต่อเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อรา

แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอยรุกรานไม่ได้ด้วย (Ramamoorthy et al., 2001; Kloepper et al., 2004; Radhakrishnan et al., 2017) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในจีนัส *Bacillus* ที่สามารถควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียที่เกิดจากเชื้อ *A. citrulli* และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโมในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองที่ดีเด่นกว่าการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชที่นิยมใช้ในการควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียของแตงสำหรับนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคผลเน่าแตงโมและช่วยเพิ่มผลผลิตพืชอย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรียโดยเทคนิค Dual culture bioassay ระดับห้องปฏิบัติการ

1.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อ *A. citrulli*

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่นำมาทดสอบทั้งหมด 12 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba032, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-Ba037N, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-NTS3, *Bacillus*-PSK, *Bacillus*-S32 และ บาซิลลัสเชิงการค้า ได้แก่ *Bacillus*-B1, *Bacillus*-K1 และ *Bacillus*-K2 ทดสอบกับเชื้อ *A. citrulli* ทั้งหมด 21 ไอโซเลต ได้แก่ Ac-AA, Ac-BB, Ac-K1, Ac-K2, Ac-KKU, Ac-KK9, Ac-MYN, Ac-M1, Ac-M2, Ac-O, Ac-PSA1128, Ac-P1, Ac-P2, Ac-Q, Ac-SQA, Ac-SQB, Ac-WMSU, Ac-WM001, Ac-Z และ Ac1 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร. เพชรรัตน์ ธรรมบุญจพล สาขาวิชาชีววิทยาและ โรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) โดยวิธี Streak plate บ่มที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นเตรียมเชื้อ *A. citrulli* ให้เป็นเซลล์แขวนลอยที่มีความเข้มข้น OD₆₀₀ เท่ากับ 0.2 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ใช้สำลีก้านึงฆ่าเชื้อจุ่มเซลล์แขวนลอยเชื้อให้เปียกชุ่ม แล้วนำไปทาบนผิวอาหาร NA ที่เตรียมไว้ใช้ในการทดสอบ

1.2 การทดสอบ Dual culture bioassay

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. เจาะขึ้นรู้นที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เจริญอยู่ จากนั้นย้ายขึ้นรู้นไปวางลงบนอาหาร NA ที่ทาด้วยเชื้อ *A. citrulli* แต่ละไอโซเลต โดยเทคนิค Dual culture bioassay ดัดแปลงวิธีจาก Harris et al. (1989) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ ขึ้นรู้นอาหาร NA ทำการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส (clear zone) นำไปเปรียบเทียบกับความแตกต่างทางสถิติของความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยโปรแกรม SPSS

2. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อ *A. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรียและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแตงโมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเรือนทดลอง

2.1 การเตรียมเมล็ดแตงโม

นำเมล็ดแตงโมพันธุ์กลมลาย 3575 (สายพันธุ์แตงโมที่มีความอ่อนแอต่อโรคผลเน่าแบคทีเรีย) มาแช่ในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที (เพื่อไม่ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดได้รับผลกระทบจากสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ด) จากนั้นทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดด้วย 10 % clorox นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเมล็ดพันธุ์ควบคุม (seed healthy) และเตรียมเมล็ดแตงโมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* โดยเลี้ยงเชื้อ *A. citrulli* ไอโซเลต WM-001 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่มีความรุนแรงของโรคสูงที่สุดในแตงโม บนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. เตรียมเชื้อ *A. citrulli* เป็นเซลล์แขวนลอย ความเข้มข้น OD₆₀₀ เท่ากับ 0.1 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ควบคุมมาแช่ในเซลล์แขวนลอยเชื้อ กวนเมล็ดให้เชื้อกระจายอย่างสม่ำเสมอโดยใช้แท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 20 นาที และผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Horuz and Aysan (2018) จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ควบคุมและเมล็ดแตงโมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* มาผสมกันในอัตราส่วน 70:30 (เมล็ดพันธุ์ควบคุม 70 เมล็ด ต่อ เมล็ดแตงโมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* 30 เมล็ด) เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.2 การผลิตชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. ในรูปแบบผงกระจายในน้ำ

ทำการผลิตชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในรูปแบบของผงกระจายในน้ำ (wettable powder) โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการควบคุมเชื้อ *A. citrulli* ทั้งหมด 4 ไอโซเลตที่ได้คัดเลือกจากข้อ 1 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Soy meal เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นทำการเก็บเซลล์เชื้อได้เป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีความเข้มข้น 10^{11} CFU/ml แล้วนำเชื้อแขวนลอย ปริมาตร 50 มล. ผสมกับสารพาและสารเสริมประสิทธิภาพ ปริมาณ 200 กรัม จากนั้นนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 40 °ซ นาน 2-3 วัน จนแห้งสนิท ตามวิธีการของทวินันท์ (2563) จะได้ผงชีวภัณฑ์ที่มีประชากรเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 10^9 CFU/g เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อ *A. citrulli* และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงโม

ทำการทดลองที่เรือนทดลอง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระยะเวลาในการทำการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม - พฤศจิกายน 2564 โดยนำเมล็ดแตงโมที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 มาคลุกด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ทั้งหมด 4 ไอโซเลต ในอัตราส่วน เมล็ดแตงโม 100 เมล็ด ต่อ ผงชีวภัณฑ์ 0.1 กรัม จากนั้นเพาะเมล็ดลงในถาดเพาะกล้า โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะ ดัดแปลงจากวิธีการของ กุศล และ พิศาล (2556) ทดลองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด โดยมี 12 กรรมวิธีดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 คือ กรรมวิธีปกติ (คลุกเมล็ดพันธุ์แตงโมควบคุมคลุกด้วยสารพา) และ กรรมวิธีที่ 2-5 (คลุกเมล็ดพันธุ์แตงโมควบคุมด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp.), กรรมวิธีที่ 6 คือ กรรมวิธีควบคุมโรค (เมล็ดแตงโมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* คลุกด้วยสารพา) และกรรมวิธีที่ 7-10 (เมล็ดแตงโมที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* คลุกด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลต) วางแผนการทดลองแบบ randomized completely block design (RCBD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด บันทึกผลความงอกของเมล็ดที่ 7 และ 14 วัน, บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ 14 วัน (ความสูงต้น, ความยาวราก, จำนวนราก, น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง), ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence) และความรุนแรงโรคที่ 7 และ 14 วัน โดยกำหนดความรุนแรงของโรคตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Wang et al. (2009) ดังนี้ 1 = ไม่แสดงอาการ, 2 = ใบเลี้ยงแสดงอาการจุดดำน้ำและมีเนื้อเยื่อตายบนใบ 1-30%, 3 = ใบเลี้ยงแสดงอาการจุดดำน้ำและมีเนื้อเยื่อตายบนใบ 31-50%, 4 = ใบเลี้ยงแสดงอาการจุดดำน้ำและมีเนื้อเยื่อตายบนใบ 51-80% และ 5 = ต้นแตงโมเกิดการตาย แล้วนำค่าระดับความรุนแรงของโรคที่ประเมินได้ไปคำนวณหาค่าดัชนีความรุนแรงโรค (Disease severity index) ตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \left[\frac{\text{จำนวนต้นพืชที่เกิดโรค} \times 100}{\text{จำนวนพืชทั้งหมดที่นำมาทดสอบ}} \right]$$

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \left[\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นพืชแต่ละระดับอาการ} \times \text{คะแนนของระดับอาการ)}}{(\text{จำนวนต้นพืชทดสอบทั้งหมด} \times \text{คะแนนสูงสุดของระดับอาการ})} \right] \times 100$$

นำเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรค เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี DMRT โดยโปรแกรม SPSS

ผลการศึกษา

1. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเชื้อ *Acidovorax citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรียโดยเทคนิค Dual culture bioassay ในระดับห้องปฏิบัติการ

เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. จำนวน 12 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบ มีจำนวน 4 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้ทั้ง 21 ไอโซเลต โดยเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด คือ *Bacillus*-Ba029 ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งมากที่สุด 10 ไอโซเลต โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของวงใสอยู่ในช่วง 10.14– 17.37 มม. รองลงมา คือ *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3 และ *Bacillus*-MS4 ตามลำดับ โดย *Bacillus*-Ba033 มีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งมากที่สุดทั้งหมด 8 ไอโซเลต มีเส้นผ่าศูนย์กลางความ

กว้างของวงใสอยู่ในช่วง 7.60 – 16.85 มม., *Bacillus*-NTS3 สามารถยับยั้งได้มากที่สุด 7 ไอโซเลต โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างวงใสอยู่ในช่วง 10.62 – 17.73 มม. และ *Bacillus*-MS4 สามารถยับยั้งได้มากที่สุดทั้งหมด 5 ไอโซเลต โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างวงใสอยู่ในช่วง 8.89 – 16.58 มม. ตามลำดับ และเมื่อนำผลการทดสอบ *Bacillus* spp. ทั้งหมดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้มากที่สุดมาเปรียบเทียบกับ *Bacillus* spp. เจริญการค้ำทั้งหมด 3 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-B1, *Bacillus*-K1 และ *Bacillus*-K2 พบว่า *Bacillus*-B1 มีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งมากที่สุด 8 ไอโซเลต โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของวงใสอยู่ในช่วง 7.81 – 16.49 มม. ส่วน *Bacillus*-K1 และ *Bacillus*-K2 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้ทั้ง 21 ไอโซเลต ส่วน *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-NTS3 มีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งมากกว่า *Bacillus*-B1 และมีเพียงบางไอโซเลตของ *A. citrulli* เท่านั้นที่ *Bacillus*-B1 สามารถยับยั้งได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติความเชื่อมั่นที่ 95% ส่วน *Bacillus*-BS สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้ดีมากทั้ง 21 ไอโซเลตแต่อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับ *Bacillus*-Ba033 (Table 1)



Figure 1 Efficacy of bioproducts from antagonistic *Bacillus* isolates for enhance seed germination percentage and growth of watermelon seedlings at 14 days after sowing in greenhouse.

Table 1 Efficacy of antagonistic *Bacillus* spp. isolates for inhibiting the growth of 21 strains of *A. citrulli* by Dual culture bioassay

Treatment	Clear zone (mm) ^{1/ 2/}										
	AC-AA	AC-1	AC-BB	AC-K	AC-K2	AC-K3	AC-KK9	AC-KKU	AC-M1	AC-M2	AC-MYN
<i>Bacillus</i> -Ba029	12.28±0.26 ^a	14.40±0.37 ^e	12.22±0.23 ^a	16.52±0.14 ^a	17.37±1.41 ^a	15.82±0.19 ^b	15.51±0.47 ^b	15.62±0.56 ^{bc}	12.20±0.81 ^c	16.28±0.50 ^a	12.57±0.38 ^d
<i>Bacillus</i> -Ba033	12.11±0.35 ^a	15.99±0.10 ^d	12.34±0.37 ^a	15.13±0.28 ^b	16.431±0.01 ^{ab}	16.25±0.18 ^a	16.64±0.36 ^a	16.85±0.56 ^a	13.28±0.27 ^{ab}	15.37±0.28 ^b	15.69±0.59 ^a
<i>Bacillus</i> -Ba037N	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
<i>Bacillus</i> -BS	10.95±0.45 ^b	15.28±0.64 ^d	11.25±0.34 ^b	13.85±0.34 ^{cd}	16.54±0.83 ^{ab}	15.35±0.37 ^c	16.40±0.13 ^a	14.83±0.59 ^c	13.15±0.49 ^{ab}	13.98±0.47 ^d	14.13±0.92 ^c
<i>Bacillus</i> -Ba032	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
<i>Bacillus</i> -MS4	12.02±0.16 ^a	17.13±0.89 ^b	12.21±0.15 ^a	13.47±0.26 ^{de}	14.53±0.28 ^{cd}	14.64±0.41 ^d	16.17±0.69 ^a	16.58±0.26 ^a	12.39±0.45 ^c	15.01±0.47 ^{bc}	14.86±0.57 ^{abc}
<i>Bacillus</i> -NTS3	11.94±0.36 ^a	17.73±0.23 ^a	11.99±0.37 ^a	15.59±0.14 ^b	17.06±0.29 ^a	16.43±0.34 ^a	16.56±0.37 ^a	16.22±0.22 ^{ab}	12.74±0.24 ^c	14.39±0.11 ^{cd}	14.53±0.81 ^{bc}
<i>Bacillus</i> -PSK	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
<i>Bacillus</i> -S32	9.65±0.13 ^c	15.25±0.21 ^e	9.75±0.78 ^c	13.05±0.15 ^e	13.94±0.15 ^d	14.04±0.11 ^e	14.65±0.35 ^c	16.61±0.97 ^a	12.25±0.21 ^c	12.85±0.12 ^b	13.25±0.48 ^d
<i>Bacillus</i> -B1	12.09±0.11 ^a	16.49±0.20 ^c	12.2±10.34 ^a	14.28±0.14 ^c	15.35±0.23 ^{bc}	15.35±0.19 ^c	15.35±0.19 ^b	15.35±0.20 ^c	13.76±0.32 ^a	15.34±0.19 ^b	15.34±0.19 ^{ab}
<i>Bacillus</i> -K1	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
<i>Bacillus</i> -K2	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
control	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
CV. %	2.23	4.03	2.33	3.04	4.87	1.85	2.63	3.50	3.36	3.65	4.27

^{1/} Means followed by the same letters within each row are not significantly different by DMRT (P < 0.01, **)

^{2/} 6.00 mm. shown in each column of control treatment is the diameter of Nutrient Agar disc without clear zone.

Table 1 Efficacy of antagonistic *Bacillus* spp. isolates for inhibiting the growth of 21 strains of *A. citrulli* by Dual culture bioassay. (Continued)

Treatment	Clear zone (mm) ^{1/ 2/}									
	AC-O	AC-P1	AC-P2	PSA1128	AC-Q	AC-S	SQ-A	SQ-B	WM-001	AC-Z
<i>Bacillus</i> -Ba029	14.72±0.42 ^b	16.44±0.12 ^a	16.35±0.14 ^a	16.32±0.54 ^a	16.67±0.30 ^a	10.14±0.59 ^a	13.56±0.65 ^{ab}	12.19±0.13 ^{bc}	12.43±0.57 ^d	12.71±0.23 ^b
<i>Bacillus</i> -Ba033	14.85±0.52 ^{ab}	14.54±0.45 ^c	14.54±0.86 ^c	15.15±0.68 ^c	15.95±0.22 ^b	7.60±0.29 ^{cd}	11.60±0.301 ^{bc}	15.34±0.85 ^a	15.81±0.64 ^a	13.19±0.21 ^b
<i>Bacillus</i> -Ba037N	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -BS	12.84±0.34 ^d	14.75±0.24 ^c	14.70±0.24 ^c	15.13±0.11 ^c	15.71±0.391 ^{bc}	7.93±0.46 ^c	12.00±0.82 ^{bc}	13.28±1.52 ^b	13.53±1.51 ^{cd}	12.72±0.35 ^b
<i>Bacillus</i> -Ba032	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -MS4	12.84±0.12 ^d	13.14±0.41 ^e	13.20±0.19 ^e	15.22±0.16 ^{bc}	15.25±0.35 ^{bc}	8.89±0.27 ^b	15.59±0.94 ^a	12.99±0.63 ^b	14.95±0.60 ^{ab}	12.01±0.25 ^c
<i>Bacillus</i> -NTS3	13.79±0.18 ^c	13.91±0.02 ^d	13.83±0.31 ^d	14.96±0.29 ^c	15.94±0.24 ^b	10.62±0.28 ^a	12.03±0.50 ^{bc}	13.03±0.71 ^b	14.58±0.82 ^{bc}	12.80±0.56 ^b
<i>Bacillus</i> -PSK	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -S32	11.72±0.61 ^e	12.80±0.76 ^e	13.64±0.31 ^d	13.99±0.47 ^d	14.48±0.51 ^d	7.23±0.98 ^d	10.47±0.56 ^c	11.86±0.41 ^c	13.20±0.50 ^d	11.57±0.75 ^c
<i>Bacillus</i> -B1	15.34±0.19 ^a	15.35±0.19 ^b	15.32±0.19 ^b	15.79±0.26 ^{ab}	15.77±0.33 ^b	7.81±0.34 ^{cd}	15.35±0.19 ^a	14.35±0.20 ^a	15.35±0.19 ^{ab}	13.79±0.37 ^a
<i>Bacillus</i> -K1	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -K2	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
control	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^f	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^e	6.00±0.00 ^d
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
CV. %	2.75	2.43	1.56	2.74	2.26	4.23	3.63	5.40	5.45	3.12

^{1/} Means followed by the same letters within each row are not significantly different by DMRT (P < 0.01, **)

^{2/} 6.00 mm. shown in each column of control treatment is the diameter of Nutrient Agar disc without clear zone.

2. ประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อ *A. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรียและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแตงโมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเรือนทดลอง

การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะสามารถลดการเกิดโรคผลเน่าแบคทีเรียที่เกิดจากเชื้อ *A. citrulli* และลดความรุนแรงของโรคในแตงโมได้ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-MS4 และ *Bacillus*-NTS3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคผลเน่าแบคทีเรียต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ความเชื่อมั่นที่ 99% เมื่อประเมินผลที่ 7 และ 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-Ba029 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด คือ 12.50% และ 14.50% ตามลำดับ และดัชนีการเกิดโรค 24.25 % และ 29.25% ตามลำดับ รองลงมา คือ *Bacillus*-MS4 มีการเกิดโรค 15% และ 17% ความรุนแรงของโรค 26.50% และ 29.95% ตามลำดับ และ *Bacillus*-Ba033 มีการเกิดโรค 17.25% และ 18.25% ความรุนแรงของโรค 28.25% และ 32.75% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมโรคที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว มีการเกิดโรคที่ 36.75% และระดับความรุนแรงของโรค 39.00% ตามลำดับ และเมื่อประเมินผลที่ 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรค และระดับความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ไม่แตกต่างจากการประเมินที่ 7 วันมากนัก แต่ในกรรมวิธีควบคุมโรคที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวพบว่าเพิ่มขึ้นมากกว่าทุกกรรมวิธี โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ 40% และระดับความรุนแรงของโรค 43.75% ตามลำดับ (Table 2, Figure 2)

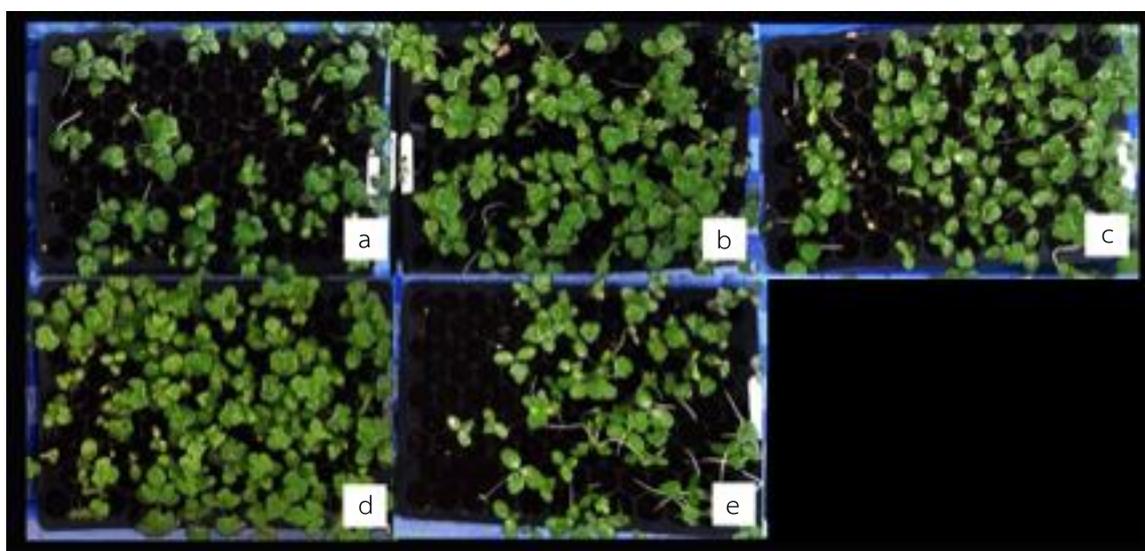
การใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต พบว่า เมื่อใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในการคลุกเมล็ดก่อนเพาะ ไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแตงโมพันธุ์ 3575 แต่มีคุณลักษณะบางประการที่เชื่อมีปฏิสัมพันธ์กันกับพืช โดยใช้หลักเกณฑ์ในการประเมินจากการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโม พบว่า กรรมวิธีควบคุมที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ดีกว่ากรรมวิธีปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ทั้งในด้านความสูงของลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง แต่การตอบสนองของพืชกับ *Bacillus* spp. ไอโซเลตต่างๆที่ใช้มีความแตกต่างกันไปบ้าง ได้แก่ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-MS4 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงที่สุด คือ 95.25% แต่เมื่อประเมินความสามารถในส่งเสริมการเจริญเติบโตจากคุณลักษณะอื่น เช่น ความสูงของลำต้น ความยาวของราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-NTS3 ต้นกล้ามีความสูงต้น และความยาวรากดีที่สุด คือ 19.62 ซม. และ 16.32 ซม. รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-MS4 ต้นกล้ามีความสูงต้น 19.49 ซม. และ 15.89 ซม. นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-MS4 ต้นกล้ามีน้ำหนักสดที่ดีที่สุด คือ 3.44 กรัม ส่วนน้ำหนักแห้ง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (Figure 1, Table 3)

เมื่อประเมินกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรค พบว่า กรรมวิธีเมล็ดพันธุ์มีเชื้อ *A. citrulli* ที่ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-MS4 และ *Bacillus*-NTS3 มาคลุกเมล็ด ต้นกล้าแตงโมยังคงงอกได้ดีมาก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีปกติที่ไม่ใส่เชื้อ *A. citrulli* แต่มีการใช้ชีวภัณฑ์ และกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ทั้งด้านความสูงของลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ในขณะที่เมล็ดที่ปลูกเชื้อ *A. citrulli* และไม่มีการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคใดๆ มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำสุด 88% การเจริญเติบโตทางลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าต่ำสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (Table 3)

Table 2 Disease incidence and Disease severity index of Bacterial fruit blotch in watermelon 3575 plants at 7 day and 14 days after transplanting in greenhouse

Treatment	Disease incidence (%) ^{1/}		Disease Severity Index (%) ^{1/}	
	7 days	14 days	7 days	14 days
<i>Bacillus</i> -Ba029	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -Ba033	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -MS4	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d
<i>Bacillus</i> -NTS3	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -Ba029	12.50±0.57 ^e	14.50±0.58 ^e	24.25±1.89 ^{cd}	29.25±1.71 ^c
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -Ba033	17.25±0.95 ^c	18.25±1.50 ^c	28.25±1.34 ^{bc}	32.75±1.81 ^c
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -MS4	15.00±0.20 ^d	17.00±1.41 ^d	26.50±1.04 ^{cd}	29.95±0.57 ^c
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -NTS3	22.25±1.50 ^b	24.00±0.81 ^b	30.75±1.43 ^b	34.75±2.59 ^b
<i>A. citrulli</i> (Disease control)	36.75±1.79 ^a	40.00±0.81 ^a	39.00±1.82 ^a	43.75±2.22 ^a
Normal	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d
F-test	**	**	**	**
%C.V.	6.29	4.97	8.09	13.12

^{1/} Means followed by the same letters within each row are not significantly different by DMRT (P < 0.01, **)

**Figure 2:** Disease incidence and disease severity index of bacterial fruit blotch disease in watermelon 3575 seedlings at 14 days after sowing in greenhouse.

- (a): Disease control (*A. citrulli*), (b): *A. citrulli*+*Bacillus*-Ba029, (c): *A. citrulli*+*Bacillus*-Ba033, (d): *A. citrulli*+*Bacillus*-MS4 and (e): *A. citrulli*+*Bacillus*-NTS3

Table 3 Efficacy of bioproduct from antagonistic *Bacillus* isolates for enhance seed germination percentage and growth of watermelon seedlings at 14 days after in greenhouse

Treatment	Germination (%) ^{1/}	Plant height (cm.) ^{1/}	Root length (cm.) ^{1/}	Fresh wt. (g/plant) ^{1/}	Dry wt. (mg/plant) ^{1/}
<i>Bacillus</i> -Ba029	94.00±1.15 ^{ab}	19.19±0.21 ^{abc}	14.69±0.74 ^{bc}	3.05±0.17 ^{ab}	2.29±0.55 ^a
<i>Bacillus</i> -Ba033	90.50±1.29 ^c	18.00±0.82 ^c	14.17±0.99 ^{cd}	2.75±0.23 ^{abc}	2.24±0.02 ^a
<i>Bacillus</i> -MS4	95.25±0.96 ^a	19.49±0.73 ^{ab}	15.89±0.82 ^{ab}	3.44±0.34 ^a	2.51±0.03 ^a
<i>Bacillus</i> -NTS3	93.50±1.29 ^b	19.62±0.98 ^a	16.32±0.88 ^a	3.39±0.46 ^{ab}	2.69±0.01 ^a
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -Ba029	90.50±1.29 ^c	18.25±0.88 ^{bc}	11.85±1.01 ^{fgh}	2.53±0.44 ^{cd}	2.24±0.04 ^a
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -Ba033	89.75±0.50 ^c	18.08±0.56 ^c	11.65±0.99 ^{gh}	2.43±0.52 ^{cd}	2.24±0.02 ^a
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -MS4	94.25±0.96 ^{ab}	18.31±0.73 ^{bc}	13.38±0.37 ^{de}	2.45±0.56 ^{cd}	2.32±0.02 ^a
<i>A. citrulli</i> + <i>Bacillus</i> -NTS3	93.50±1.00 ^b	18.45±0.82 ^{bc}	13.00±0.75 ^{def}	2.45±0.51 ^{cd}	2.64±0.04 ^a
<i>A. citrulli</i> (disease control)	88.00±0.82 ^d	15.42±0.97 ^d	10.61±0.60 ^h	2.09±0.23 ^d	1.39±0.04 ^b
Normal	89.25±0.50 ^d	15.98±0.99 ^d	12.48±1.01 ^{efg}	2.49±0.51 ^{cd}	1.44±0.05 ^b
F-test	**	**	**	**	**
%C.V.	1.63	3.73	3.10	8.72	5.73

^{1/}Means followed by the same letters within each row are not significantly different by DMRT (P < 0.01, **)

สรุปและวิจารณ์

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่นำมาศึกษาทั้งหมด 12 ไอโซเลต พบว่า มี 6 ไอโซเลต ได้แก่ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033, *Bacillus*-BS, *Bacillus*-MS4, *Bacillus*-S32 และ *Bacillus*-NTS3 ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ทั้งกว้างขวาง โดยยับยั้งได้ทั้ง 21 ไอโซเลตอย่างชัดเจน เชื้อ *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลตคาดว่ามีการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีผลไปยับยั้งการเจริญการเจริญของเชื้อ *A. citrulli* ได้แตกต่างกันไปทั้งด้านปริมาณและชนิดของสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้น (Anckaert et al., 2021) จากผลการประเมินความสามารถในระดับห้องปฏิบัติการได้จัดลำดับความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *A. citrulli* ได้ดีที่สุดในจำนวน 4 ไอโซเลต แต่เมื่อนำไปทดสอบในระดับโรงเรือนทดลอง พบว่าได้ไอโซเลตที่ดีที่สุดด้านการควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโมได้อย่างชัดเจนคือ *Bacillus*-Ba029, *Bacillus*-Ba033 และ *Bacillus*-MS4 ทั้งในสภาพต้นกล้าแตงโมจากเมล็ดปกติไม่มีเชื้อ *A. citrulli* และเมล็ดมีเชื้อ *A. citrulli* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากข้อมูลวิจัยที่มีรายงานก่อนหน้านี้ แต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคอื่นๆ ด้วย เช่น ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Rastonia solanacearum* ในพริก (ทวินนท์ และเพชรรัตน์, 2564, ทวินนท์, 2563), *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งและโรคเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว ซึ่งได้แก่ เชื้อ *Fusarium* spp. สาเหตุโรคกล้าเน่าและโรคยอดฝักดาบ และเชื้อ *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคเมล็ดต่างและใบจุดสีน้ำตาล เป็นต้น (รัตนพร และเพชรรัตน์, 2564, รัตนพร, 2563) และลดโรคใบจุดแบคทีเรียของพริกและมะเขือเทศจากเชื้อ *Xanthomonas euvesicatoria* และกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานต่อโรคใบจุดแบคทีเรียในพริกด้วย (ยลธิดา, 2562) ในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงโมได้ด้วยนั้นก็เนื่องจากเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลตต่างๆ เหล่านี้มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA (idole-3-acetic acid) ที่มีบทบาทในการพัฒนาของระบบรากและการเจริญเติบโตของส่วนลำต้น และการละลายฟอสเฟต (phosphate solubilization) (ยลธิดา และ เพชรรัตน์, 2563, ทวินนท์, 2563, รัตนพร, 2563) นอกจากนี้ยังได้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโม (ซึ่งยังไม่ได้จำแนกชนิด) จำนวน 5 ไอโซเลตได้อย่างชัดเจนมีความกว้างของวงใสตั้งแต่ 11.65 -29.06 มม. และยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโม คือ *Lasiodiplodia* spp., *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. และ *Didymella. Bryoniae* ได้อย่างชัดเจนด้วย (ฐิติญา, 2567: ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้ในรายงานวิจัยฉบับนี้)

ดังนั้นเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลตจึงมีศักยภาพสูงมากในการนำไปผลิตชีวภัณฑ์ที่มีฤทธิ์กว้างในการควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียของพืชวงศ์แตง ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืช และยังสามารถควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นๆ ที่ถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ของพืชวงศ์แตงได้ด้วย ช่วยเพิ่มผลผลิตพืชวงศ์แตงได้อย่างยั่งยืน ชีวภัณฑ์จากเชื้อบาซิลลัสปฏิปักษ์เหล่านี้สามารถใช้ทดแทนสารเคมีควบคุมโรคพืชที่นิยมใช้เช่น แมนโคเซบ ไฮแรม คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์และ สารปฏิชีวนะที่ใช้สำหรับควบคุมโรคแบคทีเรียในพืชวงศ์แตงได้อย่างสมบูรณ์ (ฐิติญา, 2567: ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้ในรายงานวิจัยฉบับนี้) การที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในการวิจัยนี้แต่ละไอโซเลตมีความดีเด่นในคุณสมบัติแตกต่างกัน เช่น *Bacillus*-NTS3 ถึงแม้ว่าควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียในระดับต้นกล้าได้ไม่ตีเท่ากับ ไอโซเลต Ba029, Ba033 และ MS4 แต่มีความสามารถดีเด่นในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงโม เมื่อนำผลการศึกษาในส่วนการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วน 16S rDNA ของ บาซิลลัสปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลต พบว่า จัดอยู่ในจีแนส *Bacillus subtilis* group (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้) ดังนั้นจึงมีศักยภาพในด้านความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในลักษณะแบบเชื้อเดี่ยว และนำไปวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์แบบเอนกประสงค์สำหรับการผลิตพืชเศรษฐกิจอื่นๆอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน โดยการนำเชื้อบาซิลลัสปฏิปักษ์ในการศึกษาวิจัยนี้ไปศึกษาความเข้ากันได้ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตเพื่อเพิ่มศักยภาพในการนำไปใช้งานเป็นชีวภัณฑ์แบบผสม (consortium bacteria) สำหรับควบคุมโรคพืชชนิดต่างๆ ในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ ของเกษตรกรได้กว้างขวางมากขึ้น ตลอดจนพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในลักษณะปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) ใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ส่งเสริมให้พืชต้านทานต่อสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (abiotic stress) เช่น สภาวะแห้งแล้ง ดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ มีน้ำน้อย หรือน้ำท่วมขัง ทำให้ผลผลิตพืชเพิ่มขึ้น (Radhakrishnan et al., 2017) มุ่งไปสู่แนวทางการผลิตพืชที่มีประสิทธิภาพ ภายใต้สภาวะลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชและช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมี แต่เน้นการใช้กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้มาช่วยฟื้นฟูความอุดมสมบูรณ์ของดินและลดเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญที่อยู่ในดินไปพร้อมๆกัน

เอกสารอ้างอิง

- กฤติกา จันทรวงศ์. 2549. การจำแนกความแตกต่างทาง phenotype และ genotype ของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ชัยญานุช กอรั้งงาม, จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์, สุจินต์ ภัทรภูวดล และวิชัย ไชยรัตน์. 2553. การตรวจหาเชื้อ *Acidovorax citrulli* ด้วยเทคนิค Co-operational polymerase chain reaction เพื่อตรวจรับรองสุขอนามัยของเมล็ดพันธุ์แตงโม. วารสารวิชาการเกษตร. 36: 279-292.
- ฐิติญา ขุนเวียงจันทร์. 2567. การควบคุมโรคผลเน่าแบคทีเรียที่เกิดจากเชื้อ *Acidovorax citrulli* และโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ของพืชวงศ์แตงโดย *Bacillus* spp. ปฏิปักษ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ทวินนท์ บางขาม. 2563. การควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก โดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ทวินนท์ บางขาม และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2564. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าพริก. เกษตร. 49: 1502-1513.
- ยลธิดา ชนะชัย. 2562. การลดโรคเมล็ดพันธุ์พริกและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพริกโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ยลธิดา ชนะชัย และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2563. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกในแนวกว้างและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. เกษตร. 48: 333-344.
- รัตนาวร รัฐเมือง. 2563. การควบคุมโรคขอบใบแห้งและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และแบคทีเรีย

ส่งเสริมการเจริญเติบโต. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รัตนาพร รัฐเมือง และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2564. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างสำหรับควบคุมโรคขอบใบแห้ง และโรคเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวในห้องปฏิบัติการ. วารสารแก่นเกษตร. 49: 1474-1486.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2567. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุมเพื่อการค้า ปี 2566-2567. แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/ard/?page_id=1428. ค้นเมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2568.

Ali, S., S. Hameed, M. Shahid, M. Iqbal, G. Lazarovits, and A. Imran. 2020. Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. *Microbiological Research*. 232: 126389.

Anckaert, A., A. Arguelles Arias, G. Hoff, M. Calonne-Salmon, S. Declerck, and M. Ongena. 2021. The Use of *Bacillus* spp. as Bacterial Biocontrol Agents to Control Plant Diseases. UK: Burleigh Dodds Science Publishing.

Bajpai, V. K., N. T. Dung, H. J. Suh, and S. C. Kang. 2010. Antibacterial activity of essential oil and extracts of *Cleistocalyx operculatus* buds against the bacteria of *Xanthomonas* spp. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 87: 1341-1349.

Dimkić, I., T. Janakiev, M. Petrović, G. Degrassi, and D. Fira. 2022. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms - A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 117: 101754.

Fan, H., Z. Zhang, Y. Li, X. Zhang, Y. Duan, and Q. I. Wang. 2017. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1973.

Harris, L. J., M. A. Daeschel, M. E. Stiles, and T. R. Klaenhammer. 1989. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*. 52: 384-387.

Horuz, S., and Y. Aysan. 2018. Biological control of watermelon seedling blight caused by *acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*, *Microbacterium* and *Pseudomonas*. *Plant Protection Science*. 54: 138-146.

Jiang, C. H., F. Wu, Z. Y. Yu, P. Xie, H. J. Ke, H. W. Li, Y. Y. Yu, and J. H. Guo. 2015. Study on screening and antagonistic mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* 54 against bacterial fruit blotch (BFB) caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Microbiological Research*. 170: 95-104.

Kloepper, J. W., C. M. Ryu, and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94: 1259-1266.

Radhakrishnan, R., A. Hashem, and E. F. Abd_Allah. 2017. *Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Frontiers in Physiology*. 8: 667.

Ramamoorthy, V., R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasam, and R. Samiyappan. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*. 20: 1-11.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 89: 515-521.

Wang, H., K. Wen, X. Zhao, X. Wang, A. Li, and H. Hong. 2009. The inhibitory activity of endophytic *Bacillus* sp. strain CHM1 against plant pathogenic fungi and its plant growth-promoting effect. *Crop Protection*. 28: 634-639.