



การคัดเลือกและการพัฒนาสูตรตำรับของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อควบคุม
โรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) ที่เกิดจาก
เชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kunh.

Selection and Development as Products of *Bacillus* spp. for Control
Leaf Blight in Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.)
Caused by *Rhizoctonia solani* Kunh.

อมรรัตน์ ชุมทอง
Amornrat Chumthong

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Soil Resources Management

Prince of Songkla University

2547

SB/0001/5 1054 2547
241429
10 ซี.ย. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกและการพัฒนาสูตรตำรับของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. เพื่อควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง (<i>Vigna subterranea</i> (L.) Verdc.) ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Rhizoctonia solani</i> Kunh.
ผู้เขียน	นางสาวอมรรัตน์ ชุมทอง
สาขาวิชา	การจัดการทรัพยากรดิน
ปีการศึกษา	2546

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และพัฒนาเป็นสูตรตำรับคลุกเมล็ดและฉีดพ่น เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง รวมทั้งตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์ที่มีในสูตรตำรับ โดยเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ปลูกถั่วหรั่งหรือถั่วลิสงจำนวน 245 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัด สงขลา พัทลุง ตรัง นครศรีธรรมราช ยะลา และนราธิวาส สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่สามารถยับยั้ง *R. solani* ได้ทั้งหมด 342 สายพันธุ์ โดยวิธี pour plate บนอาหาร GSM medium พบว่า *Bacillus* spp. จำนวน 168 สายพันธุ์ สามารถเข้ากันได้กับไรโซเบียม NC-92 และ 16 สายพันธุ์ มีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *R. solani* โดย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ TRV 9-5-2 มี ประสิทธิภาพสูงสุดในการสร้างสารปฏิบัคษ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *R. solani* เมื่อทดสอบโดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA double strength ซึ่งต่อมาจำแนกได้เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus firmus* จึงนำเชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์สายพันธุ์ดังกล่าวมาผลิตเป็นสูตรตำรับเชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์ในรูปแบบคลุกเมล็ดและฉีดพ่น

จากการพัฒนาสูตรตำรับสำหรับคลุกเมล็ด พบว่า สูตรตำรับที่ 1 (ทลคัม 99 กรัม : SCMC 1 กรัม : สารแขวนลอยสปอร์เชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์ 40 มิลลิลิตร) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. solani* สูงสุด (97.4 เปอร์เซ็นต์) และไม่มีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดถั่วหรั่ง ส่วนสูตรตำรับฉีดพ่น พบว่าสูตรตำรับที่ 1 (alginate 10 กรัม : PVP (K-30) 10 กรัม : lactose 80 กรัม : สารแขวนลอยสปอร์เชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์ 20 มิลลิลิตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุสูงสุด (92.6 เปอร์เซ็นต์) และหลังจากทดสอบการติดใบ มีปริมาณเชื้อที่อยู่รอดบนใบและก้านใบถั่วหรั่งสูงสุด จากการนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์โดยวิธี drop plate ในสูตรตำรับต่าง ๆ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าทุกสูตรตำรับ

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลดลงเล็กน้อย และสูตรตำรับคลุกเมล็ดที่ 1 และฉีดพ่นที่ 1 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่อยู่รอดสูงสุด ดังนั้นจึงนำสูตรตำรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรที่ 1 ทั้ง 2 รูปแบบ ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง ในสภาพเรือนทดลอง

การทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design) พบว่า การใช้สูตรตำรับคลุกเมล็ดร่วมกับสูตรตำรับฉีดพ่น สามารถควบคุมและยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ *R. solani* ได้ดี เช่นเดียวกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นถั่วหรั่งได้

Thesis Title	Selection and Development as Products of <i>Bacillus</i> spp. for Control Leaf Blight in Bambara Groundnut (<i>Vigna subterranea</i> (L.) Verdc.) Caused by <i>Rhizoctonia solani</i> Kunh.
Author	Miss Amornrat Chumthong
Major Program	Soil Resources Management
Academic Year	2003

Abstract

The objectives of this work were to select the effectiveness of *Bacillus* spp. for control *Rhizoctonia solani*, a causal agent of leaf blight disease of bambara groundnut, to develop the potential *Bacillus* spp. antagonising as seed treatment and spray formulation for inhibiting *R. solani* growth in laboratory and greenhouse and to enumerate the viable bacteria in formulations. 342 isolates of *Bacillus* spp. were isolated from 245 soil samples in which bambara groundnut or groundnut had been planted in Songkhla, Patthalung, Trang, Nakhonsrithammarat, Yala and Naratiwat provinces. These bacteria were isolated by testing against *R. solani* using dual culture technique on GSM medium. Among these isolates, 168 isolates were compatible well with *Rhizobium* NC-92. Further testing shown that 16 isolates of *Bacillus* spp. had a high potential for inhibiting mycelial growth of *R. solani*. Among these isolates, TRV 9-5-2 had the highest capability to produce inhibiting substance based upon its activity using dual culture technique on PDA double strength. This isolate was later identified as *Bacillus firmus*. This bacterial antagonist was produced in form of seed treatment and spray formulations.

The development of *B. firmus* isolate TRV 9-5-2 as seed treatment formulation showed that formulation 1 (talcum 99 g : SCMC 1 g : spore suspensions 40 ml) had the highest potential for inhibiting mycelial growth of *R. solani* (97.4 %) and had no effect on seed germination of bambara groundnut. Spray formulation showed that formulation 1 (alginate 10 g : PVP (K-30) 10 g : lactose 80 g : spore suspensions : 20 ml) had the highest potential for inhibiting mycelial growth of *R. solani*. (92.6 %) and the highest

viability of bacterial antagonist on leaves and petioles. The viable bacteria in all formulations were counted using drop plate method during storage at room temperature (26-32 °C) for 6 months. The slightly reduce in number of viable bacteria were found and formulation 1 from seed treatment and spray formulations had a high viability of bacterial antagonist. Finally both formulations were selected to test their efficacy in greenhouse condition.

In greenhouse trial, the experiment was arranged in completely randomized design (CRD). The trial of formulation was applied in combination with seed treatment and spray gave the best control and inhibiting growth of *R. solani*, as same as iprodione and also supporting growth of bambara groundnut.