วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* ในสภาพโรงเรือนทดลอง

Screening and efficacy of endophytic bacteria for control root and stem rot of durian caused by *Phytophthora palmivora* in greenhouse conditions

พรศิลป์ สีเผือก[1]*, พัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์[1] และ สกุลรัตน์ หาญศึก[1]

Pornsil Seephueak[1]*, Patcharaporn Vanichpakorn[1] and Sakulrat Hansuek[1]

[1] *คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช จ. นครศรีธรรมราช*
[1] *Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, Nakhon Si Thammarat*

บทคัดย่อ: โรครากและโคนเน่าของทุเรียนเกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* เชื้อสาเหตุเข้าทำลายและสร้างความเสียหายอย่างรุนแรง ทำให้ทุเรียนเกิดอาการรากและโคนเน่า ใบไหม้ และผลเน่า ส่งผลให้ผลผลิตลดลง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ เพื่อใช้ควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยเก็บตัวอย่างโรคจากดินและรากบริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรค และเก็บแบคทีเรียเอนโดไฟท์จากใบทุเรียนปกติ ในพื้นที่ อ.ช้างกลาง จ.นครศรีธรรมราช ผลการศึกษาพบเชื้อ *Phytophthora* จำนวน 3 ไอโซเลต และแบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* ทั้งหมด 14 ไอโซเลต พบ 4 ไอโซเลต ได้แก่ BS003, BS013, BS011 และ BS006 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture การยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 68.60, 66.50, 65.20 และ 62.90% ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในโรงเรือนทดลอง เมื่อราดด้วยเซลล์แขวนลอย (cell suspension) อัตรา 50 มล./ต้น พบว่า การใช้แบคทีเรียเอนโดไฟท์ ไอโซเลต BS013 ต้นทุเรียนมีการเกิดโรค (%DI) น้อยที่สุด เท่ากับ 6.20% การใช้ *Bacillus* BS006 ดัชนีความรุนแรงของโรค (%DSI) น้อยสุด เท่ากับ 0.75% และการใช้ *Bacillus* BS011 จำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียรวมหลังทดสอบ 30 วัน มากที่สุดท่ากับ 1.21 x 10^7 cfu/g soil
คำสำคัญ: การคัดเลือก; แบคทีเรียเอนโดไฟท์; โรครากและโคนเน่า; ทุเรียน; *Phytophthora palmivora*

ABSTRACT: The root and stem disease of durian caused by *Phytophthora palmivora* is a serious agent that infects root and stem, leaves and fruit reducing yield loss. This research aimed to select the endophytic bacteria for their control root and stem rot of durian in laboratory and greenhouse conditions. The samples of root and stem disease were collected from root and soil in durian plantations. Whereas, endophytic bacteria were collected from leaves of healthy durian at Changklang District, Nakhon Si Thammarat Province. The results showed 3 isolates of *Phytophthora* and 14 isolates of endophytic bacteria were found. While, 4 isolates of endophytic bacteria, BS003, BS013, BS011 and BS006 show high efficacy in inhibition *P. palmivora* obtained 68.60, 66.50, 65.20 and 62.90%, respectively. The efficacy of 50 ml/tree cell suspensions of antagonistic endophytic bacteria for controlling root and stem rot of durian in greenhouse conditions showed highly effective. The use of *B. subtilis* BS013, disease incidence (%DI) was the least obtained 6.20%. Use of *Bacillus* BS006, the disease severity index (%DSI) showed the lowest obtained 0.75% and use of *Bacillus* BS011, the total populations of bacteria after 30 days inoculated were high obtained 1.21 x 10^7 cfu/g soil.
Keywords: screening; endophytic bacteria; root and stem rot disease; durian; *Phytophthora palmivora*

* Corresponding author: pornsil.s@rmutsv.ac.th

Received: date; March 14, 2023 Revised: date; February 8, 2024

Accepted: date; March 4, 2024 Published: date;

บทนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย จัดเป็นราชาแห่งผลไม้ มีรสชาติและกลิ่นหอมเฉพาะตัว อร่อยและมีคุณค่าทางอาหารสูง ได้รับความนิยมบริโภคอย่างต่อเนื่องทั้งตลาดในและต่างประเทศ มูลค่าการส่งออก 3.5 พันล้านบาท พื้นที่ปลูกทุเรียนทั้งประเทศ ประมาณ 1,230,000 ไร่ จันทบุรีเป็นจังหวัดที่ปลูกทุเรียนมากที่สุดในประเทศไทย รองลงมา คือ จังหวัดชุมพร ระยอง นครศรีธรรมราช และ ตราด สำหรับภาคใต้มีพื้นที่ปลูกทุเรียนประมาณ 632,000 ไร่ และมีแนวโน้มการปลูกทุเรียนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช มีพื้นที่ปลูกมากถึง 84,756 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) จากการลงพื้นที่เพื่อสำรวจปัญหาการปลูกทุเรียนในจังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่า เกษตรกรกำลังประสบกับปัญหาโรครากและโคนเน่าของทุเรียน (root and stem rot) ซึ่งระบาดและสร้างความเสียหายอย่างมาก

โรครากและโคนเน่าของทุเรียน เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. เป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็กกลุ่มคล้ายรา (fungus-like microorganisms) อาศัยอยู่ในดิน เชื้อ *Phytophthora* มีหลายชนิดที่เข้าทำลายทุเรียน โดยเชื้อ *Phytophthora palmivora* เป็นชนิดหลักที่ทำให้เกิดโรคในสวนทุเรียน (มณีรัตน์, 2561) เชื้อ *Phytophthora* สามารถสร้างสปอร์พิเศษมีผนังหนา (chlamydospores) ที่ทนสภาพแวดล้อมได้ดี มีชีวิตอยู่ในดินได้นาน ภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะกับการเจริญ เช่น อากาศแห้งแล้งและดินขาดน้ำ เป็นต้น ในช่วงฤดูฝนดินมีความชื้น เชื้อจึงเจริญและเข้าทำลายพืชอาศัยได้รุนแรง เชื้อเข้าทำลายทุเรียนได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต หากเชื้อเข้าทำลายทางราก ทำให้เกิดอาการรากและโคนเน่า ใบร่วง ยืนต้นตาย กรณีเข้าทำลายใบ ทำให้เกิดอาการใบไหม้คล้ายน้ำร้อนลวก และหากเชื้อเข้าทำลายผลทุเรียน ทำให้ผลเน่าและร่วงผล ปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดโรคที่สำคัญสำหรับการผลิตทุเรียนในภาคใต้ คือ สภาพปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เนื่องจากภาคใต้มีฝนตกชุก และต่อเนื่องเกือบตลอดทั้งปี ประกอบกับบางช่วงสภาพอากาศร้อนจัดในเวลากลางวัน และความชื้นสูงในช่วงเวลากลางคืน เป็นสภาวะที่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อโรค ทำให้การระบาดของโรคเกิดอย่างรวดเร็ว เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ซึ่งในช่วงแรกมักเห็นผลดี อย่างไรก็ตามเมื่อมีการใช้ติดต่อกันยาวนานและต่อเนื่อง ทำให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดการต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ (Hardham and Blackman, 2018) เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิต เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

เชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยและเจริญอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช ไม่เป็นอันตรายต่อพืชอาศัย มีความสัมพันธ์กับพืชอาศัยแบบพึ่งพา (Bolivar-Anillo et al., 2021) และช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (Khalaf and Raizada, 2018) การศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ เพื่อใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นเรื่องที่น่าสนใจ El-Sayed et al. (2018) รายงานว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกจากราก ลำต้น และใบ *Smilax* sp. ได้แก่ *Burkholderia, Pseudomonas, Bacillus*, *Xylophilus*, *Serratia* และ *Pantoea* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* หลายสปีชีส์ ได้แก่ *P. parasitica*, *P. cinnamomi*, *P. palmivora*, *P. tropicalis* และ *P. capsici* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับการศึกษาของ Bolivar-Anillo et al. (2021) รายงานว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. ได้เช่นกัน นอกจากนี้ Khalaf and Raizada (2018) รายงานว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Enterobacteriaceae* และ *Pantoea* สามารถผลิตสารอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile Organic Compound; VOCs) และ RNase ที่เกี่ยวข้องในการสร้างภูมิคุ้มกันของพืชให้ต้านทานเชื้อก่อโรค ช่วยให้ต้นพืชแข็งแรงและสามารถยับยั้งการเกิดโรคพืชได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกจากใบทุเรียน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง การนำแบคทีเรียเอนโดไฟท์ไปใช้เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นการยกระดับการผลิตทุเรียนให้มีคุณภาพ ปลอดภัย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา

การแยกเชื้อ *Phytophthora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าทุเรียน

เก็บตัวอย่างดินและรากทุเรียนจากต้นทุเรียนที่เป็นโรครากและโคนเน่า โดยสุ่มเก็บตัวอย่างโรค จำนวน 10 ตัวอย่าง ต่อ 1 แปลง จำนวน 3 แปลง จากแปลงทุเรียนของเกษตรกร อำเภอช้างกลาง จังหวัดนครศรีธรรมราช แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการโดยวิธี soil dilution plate และวิธีการแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (tissue transplanting) บนอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารจำเพาะ V8 ที่ผสมยาปฏิชีวนะ (Kongtragoul, 2021) ทดสอบการก่อโรคบนใบทุเรียน จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และส่งตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (ITS rDNA) ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (Biotech)

เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์

เก็บตัวอย่างใบทุเรียนปกติจากแปลงทุเรียนของเกษตรกร อำเภอช้างกลาง จังหวัดนครศรีธรรมราช และแยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ ดัดแปลงตามกรรมวิธีของ Qian et al. (2021) ตัดใบทุเรียนเป็นชิ้นขนาด 4 x 4 ซม. ล้างฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยคลอรีนน้ำ (sodium hypochlorite) เข้มข้น 10% นาน 3 นาที และเอทานอล 70% เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้ง ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในโกร่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อ บดให้ละเอียด (เติมน้ำ 1-2 หยด) เจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.85% นำสารละลายที่เจือจางได้ (10^{-1} - 10^{-7}) ปริมาตร 0.1 มล. นำไปเกลี่ย (spread) บนอาหาร NA (Zubir et al., 2019) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-32 ^{o}C) เป็นเวลา 2 วัน เก็บโคโลนีเดี่ยว ๆ แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ 2-3 ครั้ง เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการยับยั้ง เชื้อ *P. palmivora* 2682 ด้วยวิธี dual culture

เชื้อ *P. palmivora* 2682 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์อารักขาพืช ซึ่งผ่านการยืนยันสายพันธุ์ระดับโมเลกุล และทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อก่อโรครากและโคนเน่าทุเรียน พบว่าทำให้เกิดโรคอย่างรุนแรงและรวดเร็ว ทดสอบด้วยวิธี dual culture วางเชื้อให้ห่างจากขอบจาน 2 ซม. เมื่อครบ 48 ชม. ขีดเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่อายุ 48 ชม. ในตำแหน่งตรงกันข้าม ห่างจากขอบอีกด้าน 2 ซม. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) จำนวน 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 ^{o}C) วัดขนาดของรัศมีโคโลนีเชื้อสาเหตุในชุดควบคุมและชุดทดสอบ คำนวณการยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth; PIRG) จากสูตร เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ = R1 – R2/R1 x 100 เมื่อ R1 = รัศมีของเชื้อในชุดควบคุม และ R2 = รัศมีของเชื้อที่เลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ (Kim et al., 2021) คัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้อย่างต่อเนื่องตลอดการทดสอบ 4 สัปดาห์ ไปจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางโมเลกุล (16S rDNA) ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพโรงเรือนทดลอง

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์บนอาหาร NA ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม. ล้างตะกอนเซลล์ด้วย 0.85% NaCl ปรับค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 nm ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.2 หรือ 10^{8} cfu/ml แช่ในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 2 ชม. เพื่อกระตุ้นการเจริญของเชื้อ ก่อนนำไปใช้ทดสอบกับต้นกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทอง อายุ 6 เดือน ใช้วิธีการตัดรากและราดด้วยสปอร์แรงเจียม (sporangia) แขวนลอยเชื้อ *P. palmivora* 2682 ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ความเข้มข้น 1 x 10^{8} spores/ml ปริมาตร 10 มล. ผสมกับเส้นใยที่เจริญบนอาหารวุ้น (mycelial plug) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. จำนวน 5 ชิ้น/ต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค ราดบริเวณรอบโคนต้นพืชทดสอบ หลังจากนั้น 2 วัน ราดบริเวณโคนต้นด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 50 มล./ต้น เปรียบเทียบกับการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด สารเคมีแมนโคเซป ชุดควบคุม (ราดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) และชุดตรวจสอบ (พืชปกติ) ตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence; %DI) คำนวณจากสูตร จำนวนใบที่แสดงอาการเหี่ยว/ร่วง ต่อจำนวนใบทั้งหมดบนกิ่ง (4 กิ่ง/ต้น) x 100 (ดัดแปลงจาก Kim et al., 2021)

ระดับความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity score) แบ่งเป็น 6 ระดับ (0-5 scales) 0 = ไม่เกิดโรค, ระดับ 1 = 10.1-10% มีใบร่วง 2-4 ใบ, ระดับ 2 = 10.1-20% ใบร่วง มากกว่า 5 ใบ, ระดับ 3 = 20.1-30% ใบร่วง มากกว่า 10 ใบ, ระดับ 4 = 30.1-40 ร่วงหล่นทั้งต้น, ระดับ 5 = > 40.1 ยืนต้นตาย คำนวณดัชนีการเกิดโรค (disease severity index; %DSI) จากสูตร [∑(A x B)/N x K] x 100 เมื่อ A คือ ระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย มี 6 ระดับ 0 1 2 3 4 และ 5, B คือ จำนวนพืชที่แสดงอาการ, N คือ จำนวนพืชทั้งหมด, K คือ ระดับโรคสูงสุด (ดัดแปลงจาก Kim et al., 2021) ตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในดินปลูกต้นทุเรียน หลังการทดสอบโรค 30 วัน ด้วยวิธีการ soil dilution plate โดยเจือจางตัวอย่างดินด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (10^{-1}- 10^{-7}) ดูดสารละลาย ปริมาตร 0.1 มล. ใส่ในจานอาหาร NA เกลี่ยให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน ตรวจนับโคโลนีแบคทีเรียที่ปรากฏ

ผลการศึกษา

การแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. และการพิสูจน์โรค

ผลการแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากและโคนเน่าทุเรียน พบเชื้อ *Phytophthora* ทั้งหมด 3 ไอโซเลต ได้แก่ Ph001, Ph002 และ Ph003 อีกทั้งพบเชื้อ *Pythium* spp. และเชื้อ *Fusarium* spp. ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในดินทำให้เกิดโรครากและโคนเน่า และโรคเน่าระดับดินของพืชหลายชนิด จำแนกเชื้อ *Phytophthora* ทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อ *Phytophthora* ทั้ง 3 ไอโซเลต มีลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกัน โดยที่ไอโซเลต Ph001 โคโลนีมีสีขาว เส้นใยฟู เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมองเห็นเป็นชั้นซ้อนกันอย่างเห็นได้ชัด สร้างสปอร์แรงเจีย (sporangia) บนอาหาร V8 ภายใน 72 ชม. ไอโซเลต Ph002 โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีขาวอ่อน เส้นใยบาง ประสานไม่แน่น และไอโซเลต Ph003 โคโลนีสีขาวเข้ม เส้นใยประสานอย่างหนาแน่น **(Figure 1)** เมื่อจำแนกชนิดด้วยการตรวจลำดับนิวคลีโอไทด์ (ITS rDNA) พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลต เป็นจีนัส *Phytophthora* เมื่อทำการทดสอบการก่อโรคบนใบทุเรียน พบว่าใบทุเรียนเกิดอาการแผลไหม้ คล้ายน้ำร้อนลวก เช่นเดียวกับการทดสอบด้วยเชื้อ *P. palmivora* 2682 **(Figure 2)**

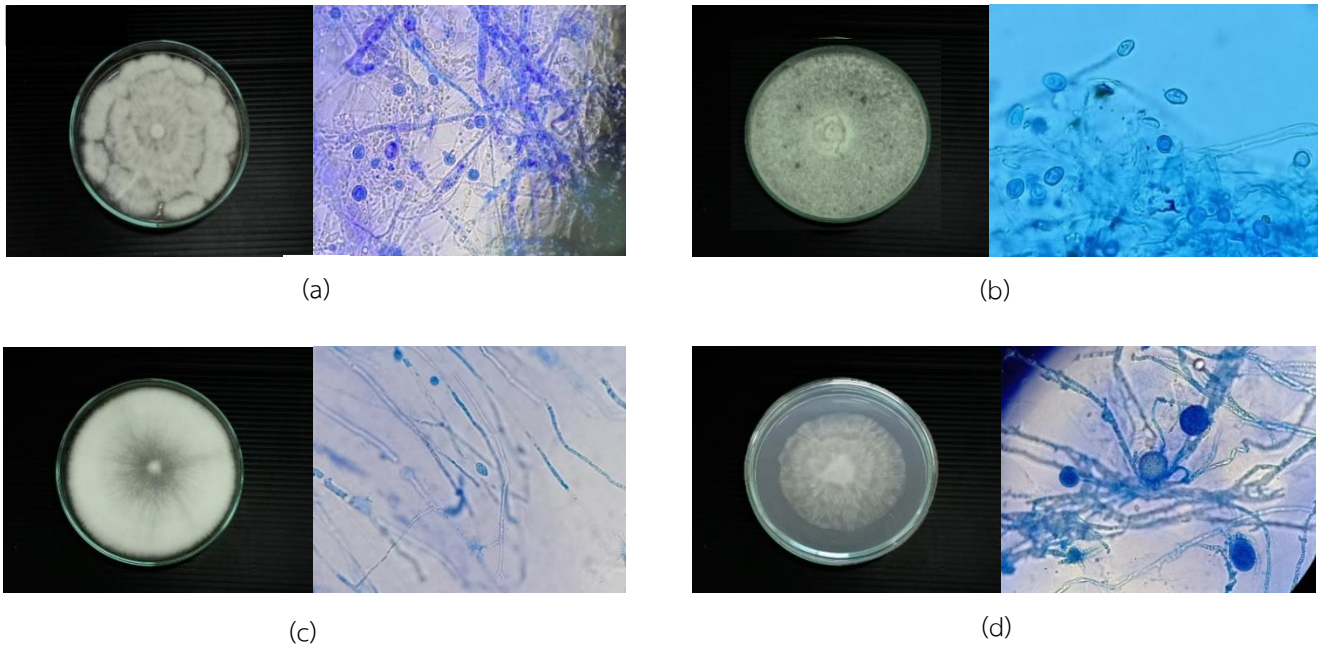
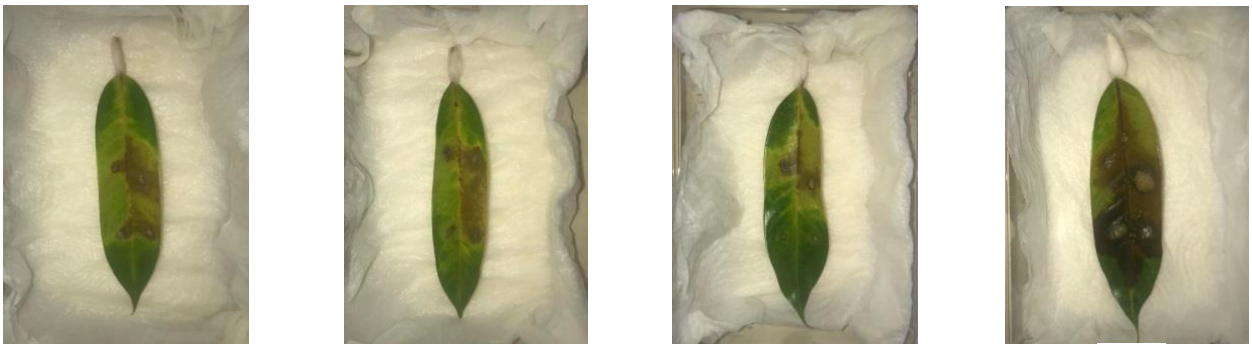


Figure 1 Colony and sporangia of *Phytophthora* Ph001 (a); Ph002 (b); Ph003 (c) and *P. palmivora* 2682 (d) on PDA under compound microscope at 40x.



(a) (b) (c) (d)

Figure 2 The disease symptoms on the leaves of durian after inoculated with *Phytophthora* Ph001 (a); *Phytophthora* Ph002 (b); *Phytophthora* Ph003 (c) and *P. palmivora* 2682 (d) at 72 h.

การแยกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์และทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* 2682 ด้วยวิธี dual culture

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์จากใบทุเรียนพบทั้งหมด 14 ไอโซเลต พบว่า 4 ไอโซเลต ได้แก่ BS003, BS013, BS011 และ BS006 ซึ่งประสิทธิภาพสูง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. palmivora* 2682 ได้อย่างต่อเนื่องตลอด 4 สัปดาห์ ประสิทธิภาพการยับยั้ง เท่ากับ 68.60, 66.50, 65.20 และ 62.90% ตามลำดับ **(Table 1) (Figure 3)** เมื่อจำแนกสปีชีส์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุล (16S rDNA) พบว่า เชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ทั้ง 4 ไอโซเลต อยู่ในจีนัส *Bacillus* โดยที่ BS003 และ BS006 เป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* มีความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ 99.78% ในขณะที่ไอโซเลต BS011 เป็นเชื้อ *Bacillus velezensis* และไอโซเลต BS013 เป็นเชื้อ *Bacillus siamensis* มีความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ 99.93% ตามลำดับ

Table 1 The inhibitory effect of endophytic bacteria in vitro on the mycelium growth of *P. palmivora* 2682

Isolates	Inhibition (%)			
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
Control	0.00±0.00[1/g]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]	0.00±0.00[e]
BS001	1.50±0.00[g]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]	0.00±0.00[e]
BS002	78.50±2.00[abc]	74.40±2.10[a]	71.20±3.20[ab]	61.60±4.20[bc]
BS003	77.30±1.50[abcd]	74.80±2.10[a]	72.40±3.40[a]	68.60±4.90[a]
BS004	23.20±6.30[f]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]	0.00±0.00[e]
BS005	31.90±4.30[e]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]	0.00±0.00[e]
BS006	77.10±1.30[abcd]	76.10±0.60[a]	71.70±1.90[a]	62.90±1.90[abc]
BS007	74.60±1.90[d]	70.00±3.00[b]	66.90±3.20[bc]	61.80±1.70[bc]
BS008	75.50±1.50[cd]	67.00±3.30[b]	34.10±4.20[d]	26.10±6.50[d]
BS009	4.80±0.00[g]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[e]	0.00±0.00[e]
BS010	77.00±1.20[abcd]	68.90±3.20[b]	63.50±3.70[c]	59.20±1.30[c]
BS011	79.50±1.20[ab]	74.80±1.60[a]	73.50±2.40[a]	65.20±2.80[abc]
BS012	75.50±1.10[cd]	73.20±1.40[a]	69.60±5.40[ab]	61.50±4.50[bc]
BS013	80.30±1.70[a]	75.70±2.70[a]	72.00±2.50[a]	66.50±2.10[ab]
BS014	76.40±1.40[bcd]	73.90±2.50[a]	70.50±4.00[ab]	31.00±3.90[d]
C.V. (%)	27.17	20.59	22.96	22.75
F-test	**	**	**	**

[1/] = Means in a same column followed by the different letters are significant different by Duncan (P<0.01)

**= Significantly different (P<0.01)

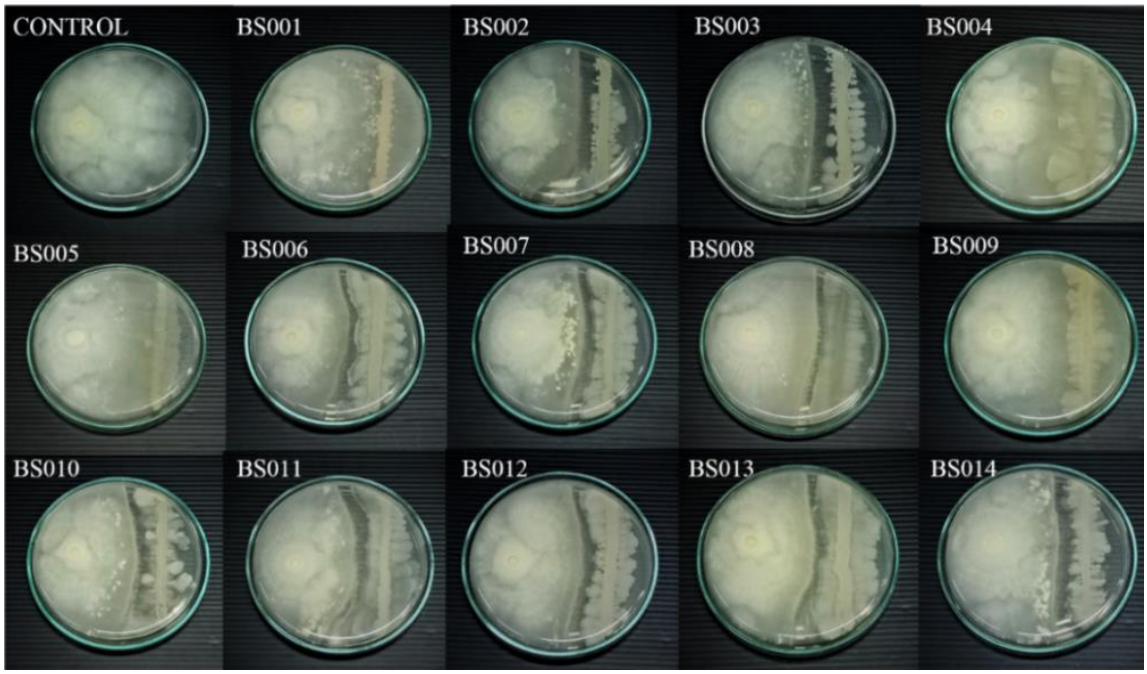


Figure 3 Inhibition effect of endophytic bacteria on mycelial growth of *P. palmivora* 2682 based on dual culture method at 7 days after tested on PDA.

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ต่อการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในสภาพโรงเรือนทดลอง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลต เปรียบเทียบกับ *B. subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด และสารเคมีแมนโคเซป พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) โดยกรรมวิธีการใช้ *Bacillus* BS013 ทำให้ต้นทุเรียนเกิดโรคน้อยที่สุด เท่ากับ 6.20% รองลงมา คือ การใช้ *Bacillus* BS011 และ *Bacillus* BS006 การเกิดโรคเท่ากับ 6.88 และ 7.50% ตามลำดับ ในขณะที่การราดด้วย *B. subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด, สารเคมีแมนโคเซป, *Bacillus* BS003 และชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) การเกิดโรคเท่ากับ 13.55, 14.28, 14.49 และ 32.17% ตามลำดับ **(Table 2)**

เมื่อพิจารณาดัชนีการเกิดโรค พบว่ากรรมวิธีการใช้ *Bacillus* BS006 มีดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 0.75% รองลงมา คือ กรรมวิธีการใช้ *Bacillus* BS011, *Bacillus* BS013 และ *Bacillus* BS003 ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 1.38, 2.62 และ 2.89% ในขณะที่เชื้อ *B. subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด, สารเคมีแมนโคเซป, *Bacillus* BS003 และชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) พบดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 2.70, 2.86, 2.89 และ 11.84% ตามลำดับ เมื่อตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียรวมในดินหลังการทดสอบ 30 วัน พบว่า กรรมวิธีการใช้ *Bacillus* BS011 มีจำนวนประชากรเชื้อสูงสุด เท่ากับ 1.21×10^7 cfu/g soil รองลงมาคือ กรรมวิธีการใช้ *Bacillus* BS006 จำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 1.09×10^7 cfu/g soil **(Table 2)**

Table 2 Potential of endophytic bacteria for control root and stem rot of durian under greenhouse conditions

Treatments	Disease Incidence (%DI) [1/]	Disease Severity Index (%DSI) [1/]	Colony Forming Unit (cfu/g soil) [1/]
Bacillus BS003	14.49±0.00^{b}	2.89^{b}	5.25 x 10^{5d}
Bacillus BS006	7.50±0.08^{e}	0.75^{f}	1.09 x 10^{7b}
Bacillus BS011	6.88±0.01^{f}	1.38^{e}	1.21 x 10^{7a}
Bacillus BS013	6.20±0.01^{g}	2.62^{d}	5.65 x 10^{5cd}
B. subtilis	13.55±0.05^{d}	2.70^{c}	6.38 x 10^{5c}
Mancozeb	14.28±0.01^{c}	2.86^{b}	5.20 x 10^{5d}
Control (Distilled water)	32.17±0.01^{a}	11.84^{a}	3.15 x 10^{4e}
Control check (Healthy plant)	0±0.00^{h}	0.00^{g}	4.38 x 10^{4e}
C.V. (%)	0.28	0.60	1.29
F-test	**	**	**

[1/] = Means in a same column followed by the different letters are significant different by Duncan (P<0.01)

**= Significantly different (P<0.01)

วิจารณ์

เชื้อ *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากดินและใบทุเรียนในพื้นที่อำเภอช้างกลาง จังหวัดนครศรีธรรมราช พบทั้งหมด 3 ไอโซเลต ซึ่งมีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน แต่ทุกไอโซเลตสามารถก่อโรคกับใบทุเรียน ภายใน 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ เช่นเดียวกับเชื้อ *P. palmivora* 2682 ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์ที่ใช้อ้างอิงในการทดลองครั้งนี้ เชื้อ *P. palmivora* เป็นสปีชีส์ที่ทำให้เกิดโรครากและโคนเน่าของทุเรียนซึ่งพบการรายงานในประเทศไทย (มณีรัตน์, 2561) อย่างไรก็ตามจากรายงานการวิจัยพบว่า เชื้อก่อโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อกลุ่มคล้ายรามีหลายสปีชีส์ ได้แก่ เชื้อ *Phytophthora* เช่น *P. palmivora*, *P. nicotianae, P. cinnamomi* และเชื้อ *Pythium* เช่น *P. cucurbitacearum*, *P. vexan* และ *P. delicense* (Kongtragoul et al., 2021; Suksiri et al., 2018) เป็นต้น

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* spp. มีประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชและมักถูกนำมาใช้งานร่วมกับการผลิตพืชหลายชนิด จากผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกจากใบทุเรียนที่ไม่เป็นโรคและเป็นต้นทุเรียนที่แข็งแรงมีจำนวนมาก ผลการศึกษาพบทั้งหมด 14 ไอโซเลต โดยแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora* spp. แตกต่างกัน โดยมีแนวโน้มการยับยั้งเชื้อก่อโรคลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 4 สัปดาห์ พบว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์จำนวน 7 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อก่อโรคได้มากกว่า 60% โดยแบคทีเรียเอนโดไฟท์จำนวน 4 ไอโซเลตที่ถูกคัดเลือกมาใช้ทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* 2682 ค่อนข้างสูง อยู่ในช่วง 62.90-66.50% ในขณะที่แบคทีเรียเอนโดไฟท์ จำนวน 3 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* 2682 อยู่ในช่วง 26.10-59.20% นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ จำนวน 4 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* 2682 เพียง 1 สัปดาห์แรกของการทดสอบ โดยการยับยั้งอยู่ในช่วง 1.50-31.90% การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Anjarsari et al. (2021) รายงานว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* จำนวน 5 ไอโซเลตที่คัดเลือกได้จากใบโกโก้ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* โดย *Bacillus* ไอโซเลต Ba12K2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคสูงสุด 61% ในขณะที่ Zubir et al. (2019) รายงานว่าเอนโดไฟท์แบคทีเรีย 4 ไอโซเลต ได้แก่ *B. amyloliquefaciens*, *Pantoea agglomerans*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. palmivora* ได้ โดย *B. subtilis* สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อก่อโรคสูงสุด 41.20 มม. ในขณะที่ El-Sayed et al. (2018)

รายงานว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ 12 จีนัส ที่แยกได้จากราก ลำต้น และใบ *Smilax* sp. มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Phytophthora* อย่างมีประสิทธิภาพ จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ BS003, BS006, BS011 และ BS013 โดยพิจารณาจากประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 - 4 และพิจารณาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีลักษณะแตกต่างกัน และเมื่อจำแนกด้วยเทคนิคทางโมเลกุล พบว่า ทุกไอโซเลตเป็นเชื้อ *Bacillus* โดยที่ไอโซเลต BS003 และ BS006 เป็นเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลต BS011 เป็นเชื้อ *B. velezensis* และไอโซเลต BS013 เป็นเชื้อ *B. siamensis*

การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kim et al. (2021) รายงานว่า *B. velezensis* AFB2-2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. infestans* เมื่อราดลงดินในสภาพโรงเรือนทดลอง พบการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 13.30 และ 0.22% ตามลำดับ ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kumbar et al. (2019) รายงานว่า *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง อีกทั้งทำให้มันฝรั่งมีผลผลิตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *B. velezensis* สามารถยับยั้งโรครากขาวที่เกิดจากเชื้อ *Rosellinia necatrix* (Sawant et al., 2022) และโรคแอนแทรกโนสของพริก (Shin et al., 2021) ในขณะที่ *B. siamensis* สามารถยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* สาเหตุโรคเหี่ยวในแตง (Zhou et al., 2022) กรมวิชาการเกษตร โดย นลินี และคณะ (2556) รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 5102 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *P. palmivora* ทั้งนี้การใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* โดยการถากเปลือกต้นทุเรียนบริเวณที่เป็นโรค และทาด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 5102 จำนวน 4 ครั้ง ร่วมกับการฉีดชีวภัณฑ์เข้าต้นทุเรียนจำนวน 1 ครั้ง ทำให้แผลที่เป็นโรคแห้งลง เนื้อเยื่อบางส่วนหายเป็นปกติ จุดฉ่ำน้ำหยุดไหล

เมื่อพิจารณาการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียน ด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในสภาพโรงเรือน พบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ จำนวน 3 ไอโซเลต คือ *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียน การเกิดโรคอยู่ในช่วง 6.20 - 7.50% และดัชนีความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 0.75 - 2.62% ซึ่งประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ที่จำหน่ายในท้องตลาด และสารเคมีแมนโคเซป ซึ่งการเกิดโรคของต้นทุเรียนเท่ากับ 14.55 และ 14.28% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีการใช้ *B. subtilis* BS003 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเส้นใย *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ แต่เมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่าความสามารถในการควบคุมโรครากและโคนเน่ามีแนวโน้มลดลง โดยต้นกล้าทุเรียนเกิดโรค 14.49% และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.89% ทั้งนี้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในการป้องกันกำจัดโรค ในสภาพโรงเรือนทดลองหรือสภาพแปลงปลูกขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ความสามารถของตัวเชื้อในการผลิตสารปฏิชีวนะหรือสารทุติยภูมิ การมีชีวิตรอดของเชื้อในสิ่งแวดล้อม ความสามารถในการครอบครองพื้นที่ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัย (Preecha et al., 2018) เป็นต้น

เมื่อตรวจนับจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ทั้งหมดในดินหลังการทดสอบ พบว่ากรรมวิธีการใช้ *B. velezensis* BS011 และ *B. subtilis* BS006 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงและมีอายุยาวนาน หลังทดสอบ 30 วัน ประชากรแบคทีเรียรวม เท่ากับ 1.21 และ 1.09×10^7 cfu/g soil สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Emmanuel and Babalola (2020) รายงานว่า *B. subtilis, B. velezensis* และ *B. siamensis* เป็นกลุ่มแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่นำมาใช้ป้องกันกำจัดโรคพืช ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถดำรงชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* ที่แยกได้จากการศึกษานี้เป็นสายพันธุ์ท้องถิ่น จึงสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี และสามารถดำรงชีวิตได้นาน อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อจะเริ่มลดลงเมื่อระยะเวลานานขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ หนึ่ง (2557) รายงานว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BSN301 ในเดือนแรกของอายุการเก็บรักษาเชื้อมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีมาก และศักยภาพในการยับยั้งลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น 2-6 เดือนแต่ยังคงอยู่ในระดับดี ดังนั้นแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนในอนาคต โดยผลิตในรูปแบบชีวภัณฑ์เพื่อให้ง่ายในการนำไปใช้งาน

สรุป

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบทุเรียน มีทั้งหมด 14 ไอโซเลต โดยที่ 4 ไอโซเลตมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *P. palmivora* จำแนกชนิดระดับสปีชีส์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุล พบว่าทั้งหมดอยู่ในจีนัส *Bacillus* ได้แก่ *B. subtilis* BS003, *B. subtilis* BS006, *B. velezensis* BS011 และ *B. siamensis* BS013 เมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า กรรมวิธีการใช้ *B. siamensis* BS013 ทำให้ต้นทุเรียนเกิดโรคน้อยที่สุด กรรมวิธีการใช้ *B. subtilis* BS006 ดัชนีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด และกรรมวิธีการใช้ *B. velezensis* BS011 มีจำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรียรวมในดินมากที่สุด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2565 ขอขอบคุณเกษตรกรกลุ่มทุเรียนแปลงใหญ่ช้างกลาง อำเภอช้างกลาง จังหวัดนครศรีธรรมราช สำหรับความร่วมมือในการเก็บข้อมูลและอนุเคราะห์พื้นที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นลินี ศิวากรณ์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และศิริพร วรกุลดำรงชัย. 2556. การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์ ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=1138. ค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2566.

มณีรัตน์ คูหาพิทักษ์ธรรม. 2561. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทย. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา. แหล่งข้อมูล : http://dspace.lib.buu.ac.th/xmlui/handle/1234567890/3914. ค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2566.

หนึ่ง เตียอำรุง. 2557. การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิต และการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพทางการเกษตร. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. แหล่งข้อมูล: https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?. ค้นเมื่อ 5 มีนาคม 2566.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. ทุเรียน. แหล่งข้อมูล : https://mis-app.oae.go.th/product. ค้นเมื่อ 11 มีนาคม 2566.

Anjarsari, D.T., E.T. Prasetyawati, and Y. Wuryandari. 2021. Inhibitory test of *Bacillus* sp. against *Phytophthora palmivora* cause cocao fruit rot disease. pp. 14-21. In Nusantara Science and Technology Proceedings. Jawa Timur, Indonesia. Available : http://doi:10.11594/nstp.2022.2003. Accessed Mar. 9, 2023.

Boliivar-Anillo, H.J., V.E., Gonzales, G.R. Almeida, I. Izquierda-Bueno, and C. Garrido. 2021. Endophytic microorganism as an alternative for the biocontrol of *Phytophthora* spp. In: Agro-Economic Risk of *Phytophthora* and an Effective Biocontrol Approach. Available : http://doi:10.5772/intechopen.99696. Accessed Mar. 9, 2023.

El-Sayed, A.S.A., A. Akbar, I. Iqrar, R. Ali, D, Norman, M. Brennan, and G.S. Ali. 2018. A glucanolytic *Pseudomonas* sp. associated with *Smilax bona-nox* L. displays strong activity against *Phytophthora parasitica*. Microbiology Research. 207: 140-152.

Emmanuel, O.C., and O.O. Babalola. 2020. Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. Microbiological Resources. 239: 126569. Available: http://doi:10.1016/j.micres.2020.126569. Accessed Mar. 10, 2023.

Hardham, A.R., and L.M. Blackman. 2018. *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Plant Pathology. 19: 260-285.

Khalaf, E.M., and M.N. Raizada. 2018. Bacterial seed endophytes of domesticated cucurbits antagonize fungal and oomycete pathogens including powdery mildew. Frontiers in Microbiology. 9: 1-18.

Kim, M.J., C.K. Shim, and J.H. Park. 2021. Control efficacy of *Bacillus velezensis* AFB2-2 against potato late blight caused by *Phytophthora infestans* in organic potato cultivation. Plant Pathology Journal. 37(6): 580-595.

Kongtragoul, P., K. Ishikawa, and H. Ishii. 2021. Metalaxyl resistance of *Phytophthora palmivora* causing durian disease in Thailand. Horticulture. 7: 375. Available: http://doi.org/10.3390/horticulturae. Accessed Mar. 9, 2023.

Kumbar, B., R., Mahmood, S.N. Nagesha, M.S. Nagaraja, D.G. Prashant, O.Z. Kerima, A. Karosiya, and M. Chavan. 2019. Field application of *Bacillus subtilis* isolates for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans.* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. Available: https://doi.org/10.1016/ j.bcab.2019. 101366. Accessed Mar.9, 2023.

Preecha, C., W. Wisutthiphaet, and P. Seephueak. 2018. Occurrence of canker caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* on pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) cultivar. Tabtim Siam in Nakhon Si Thammarat province, Thailand and screening fungicides, antibiotics and antagonistic bacteria against *X*. a. pv. *citri in vitro*. Journal of Geoscience and Environment Protection. 6: 1-7.

Qian, J., T. Zhang, S. Tang, L. Zhou, K., Li, X. Fu, and S. Yu, 2021. Biocontrol of citrus canker with endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* QC-Y. Plant Protection Science. 57: 1-13.

Sawant, S.S., J. Song, and H.J. Seo. 2022. Characterization of *Bacillus velezensis* RDA1 as a biological control agent against white root rot disease caused by *Rosellinia necatrix*. Plants. 11: 2486. Available: https://doi.org/10.3390/plant s11192486. Accessed Feb.9, 2023.

Shin, J.H., B.S. Park, H.Y. Kim, K.H. Lee, and K.S. Kim. 2021. Antagonistic and plant growth-promoting effects of *Bacillus velezensis* BS1 isolated from rhizosphere soil in a pepper field. Plant Pathology Journal. 37: 307-314.

Suksiri, S., P. Laipasu, K. Soytong, and S. Poeaim. 2018. Isolation and identification of *Phytophthora* sp. and *Pythium* sp. from durian orchard in Chumphon province, Thailand. International Journal of Agricultural Technology. 14: 389-402.

Zhou, L., J. Wang, F. Wu, C. Yin, K.H. Kim, and Y. Zhang. 2022. Termite nest associated *Bacillus siamensis* YC-9 mediated biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum.* Frontier Microbiology. 13, 2022. Available: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.893393. Accessed Mar.9, 2023.

Zubir, I., E.E.R. Ross, A. Hamzah, and W.S. Aqma. 2019. Endophytic bacteria from *Theobroma cacao* L. with antifungal activities against *Phytophthora palmivora*. Asian Journal of Agriculture and Biology. 7: 404-41.