บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* ในรูปแบบเจลบีดเพื่อควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในดิน เจลบีดที่มีเอนโดสปอร์ของ *B. megaterium* เตรียมจากอัลจิเนตหรือคาราจีแนนโดยวิธี ionotropic gelation

จากการเตรียมอัลจิเนตเจลบีด พบว่าปริมาณอัลจิเนตที่ใช้มีผลต่อความสามารถในการพองตัวและสลายตัวทางชีวภาพ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของอัลจิเนตจะทำให้คุณสมบัติดังกล่าวเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณอัลจิเนตไม่มีผลต่ออัตราการปลดปล่อยเชื้อแบคทีเรียออกจากเม็ดบีด การปลดปล่อยเชื้อแบคทีเรียทั้งในน้ำและในดินเป็นไปอย่างรวดเร็วในระยะแรก ตามด้วยการปลดปล่อยเชื้ออย่างช้าๆ ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยแบคทีเรียที่ปลดปล่อยออกมาในดินที่เวลาต่างๆสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ *Rhizoctonia solani และ Fusarium oxysporum* (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง > 90 ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์) การสลายตัวในดินของอัลจิเนตเจลบีดที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (60 เปอร์เซ็นต์) เกิดขึ้นมากกว่าในน้ำ (26.8 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินอาจมีส่วนช่วยในการย่อยสลายด้วย อัลจิเนตเจลบีดสามารถเพิ่มการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียต่อแสง UV pH และอุณหภูมิสูง ชีวภัณฑ์เจลบีดมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียอยู่รอด > 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 เดือน

จากการเตรียมคาราจีแนนเจลบีด พบว่าการลดปริมาณโพแทสเซียมคลอไรด์มีผลในการเพิ่มความสามารถในการพองตัว แต่ไม่มีผลต่อการสลายตัวหรือการปลดปล่อยเชื้อแบคทีเรียของเม็ดบีด การปลดปล่อยเชื้อแบคทีเรียทั้งในน้ำและในดินเป็นไปในลักษณะคล้ายคลึงกับอัลจิเนตเจลบีด โดยแบคทีเรียที่ปลดปล่อยออกมาในดินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค *Rhizoctonia solani* (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง > 90 ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์) การสลายตัวในดินของคาราจีแนนเจลบีดที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ (48.8 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เกิดขึ้นมากกว่าในน้ำที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ (45 เปอร์เซ็นต์) คาราจีแนนเจลบีดสามารถเพิ่มการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียต่อแสง UV และ pH ชีวภัณฑ์เจลบีดมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียอยู่รอด > 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

การนำอัลจิเนตเจลบีดที่เตรียมจากแคลเซียมคลอไรด์ในความเข้มข้นแตกต่างกันมาเคลือบด้วยไคโตซานเพื่อหวังผลในการควบคุมการปลดปล่อยแบคทีเรียให้ดีขึ้น ผลการทดลองพบว่า การใช้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูง (0.05 โมลาร์) สามารถลดการปลดปล่อยแบคทีเรียในระยะแรกอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่การเคลือบด้วยไคโตซานความเข้มข้นสูงสามารถชะลอการปลดปล่อยแบคทีเรียในระยะแรกได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ในเวลาต่อมา ปัจจัยดังกล่าวเป็นตัวขัดขวางการปลดปล่อยเชื้อแบคทีเรีย เป็นผลให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปลดปล่อยอาจมีน้อยเกินไปไม่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคพืช

การทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 7 กรรมวิธี จำนวน 6 ซ้ำ พบว่า การใช้ชีวภัณฑ์อัลจิเนตเจลบีดสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิด

จากเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ดีใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ใช้สารฆ่าเชื้อราเบโนมิล ผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า เจลบีดที่มีเชื้อแบคทีเรีย *B.megaterium* เป็นชีวภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์นานและสลายตัวทางชีวภาพ สามารถนำไปใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในดิน

Abstract

This research project aimed to develop gel beads of *Bacillus megaterium*, a bacterial biological control agent, to control plant diseases caused by soil-borne plant pathogenic fungi. The gel beads containing endospores of *B. megaterium* were prepared from alginate or k-carrageenan by ionotropic gelation method.

The amount of alginate used for preparing gel beads influenced the swelling ability and biodegradation. Increasing the concentration of sodium alginate resulted in an increase in both swelling ability and gel erosion. However, the amount of alginate had no effect on the bacterial release. The rapid release of cells of this bacterium from the encapsulation in the initial time period was observed in both water and soil, followed by a slow release over a period of 4 weeks. The released bacteria at each time point had an ability to inhibit mycelial growth of fungal pathogens *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* (% mycelial inhibition was > 90% up to 4 weeks). The bead degradation in soil (at 60% in 2 weeks) was enhanced by soil microorganism, comparing to the degradation of the bead in water (at 26.8%). Encapsulation was found to protect the endospores of *B. megaterium* against physical factors, such as UV light, high temperature and pH. The bacteria remained viable (> 90%) in the dry alginate gel beads for 7 months at room temperature (30±2°C)

Carragenan gel beads prepared with lower potassium chloride concentration demonstrated high swelling ability. However, the amount of potassium chloride used did not affect the rate of bacterial release from encapsulation in the beads. The rapid release of bacteria from encapsulation of the carrageenan gel beads had a similar pattern to the release of the bacteria from encapsulation of the alginate beads. The releasing bacteria at each point in time had ability to inhibit mycelial growth of fungal pathogens *Rhizoctonia solani* (% mycelial inhibition > 90% up to 4 weeks). The degradation of bead in soil (at 48.8 and at 64% in 2 and 4 weeks, respectively) was higher than the degradation of bead in water (at 45% in 4 weeks). Encapsulation of bacteria with carragenan gel matrix also increased the viability of the endospores against physical factors, such as UV light and pH. The bacteria remained viable (> 90%) in the dry gel beads for 6 months at room temperature.

Alginate beads prepared with different concentration of calcium chloride were coated by chitosan. The high concentration of calcium chloride (0.05 M) significantly reduced the initial release of bacterial cells, while the high concentration of chitosan coating also decreased the initial cell release to some extent. However, both factors prevented further cell release resulting in an insufficient amount of overall cell release for plant disease control.

In the greenhouse experiment, in randomized complete design (CRD), with 7 treatments and 6 replications, the selected formulation of alginate gel bead was effective to control the wilt disease of chili caused by *F. oxysporum*. The results from this study indicated that the biodegradable gel bead of *B. megaterium* had potential for controlling fungal soil-borne plant diseases with their long- acting efficacy.