กานต์สินี แหลมเฉียบ : ประสิทธิภาพของการใช้ *Bacillus* sp. และการปลูกพืชแซมต่อการควบคุมโรครากและหัวเน่ามันสำปะหลังพันธุ์รับประทานสายพันธุ์พิรุณ 2 (EFFICACY OF *Bacillus* sp. AND INTERCROPPING TO CONTROL ROOT AND TUBER ROT DISEASES OF EDIBLE CASSAVA cv. PIRUN 2) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 83 หน้า.

คำสำคัญ: มันสำปะหลัง/สำปะหลังพันธุ์รับประทาน/โรครากและหัวเน่า/บาซิลลัส/การปลูกพืชแซม

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชหัวที่มีความสำคัญ มักใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตอาหารสัตว์และแป้งมันสำปะหลัง โดยการผลิตมันสำปะหลังมักพบปัญหาคือโรคมันสำปะหลัง ความรุนแรงของโรคที่เพิ่มขึ้นและความหลากหลายในการเข้าทำลาย โดยโรครากและหัวเน่ามันสำปะหลัง สามารถทำให้สูญเสียผลผลิตมันสำปะหลังมากกว่า 80% การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. และการปลูกพืชแซมเพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่ามันสำปะหลัง โดยทำการทดสอบการก่อโรคของโรครากและหัวเน่ามันสำปะหลัง (Cassava root and tuber rot disease : CRTRD) ในต้นพันธุ์มันสำปะหลังและหัวมันสำปะหลัง ผลการศึกษาพบว่า เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ทำให้เกิดแผลเน่า มีสีดำ ทั้งในต้นมันสำปะหลังและในหัวมันสำปะหลัง โดยมีระดับคะแนน 4 คะแนน เนื่องจากได้รับผลกระทบ 75% ของพื้นที่ ต่อมาศึกษาผลของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *L. theobromae* ผลการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *L. theobromae* ที่ 5 วันหลังจากการบ่ม โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 53.08% รองลงมาคือ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT007 และ D604 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 50.30% และ 48.37% เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากนั้นทำการทดสอบความทนทานต่ออุณหภูมิสูง ผลการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT 008-2, D604 และ CaSUT007-1 สามารถเติบโตที่อุณหภูมิสูงได้ถึง 53 °C โดยมีการรอดชีวิตที่ 5.26×10^8, 3.40×10^8, 3.33×10^8 CFU/ml ตามลำดับ จากนั้นทำการทดสอบความต้านทานรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT 008-2 โดยมีการรอดชีวิตที่ 2.40×10^8CFU/ml หลังจากการได้รับรังสี UV ที่ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *L. theobromae* ที่ความเข้มข้น 2%, 5% และ 10% พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ทั้ง 3 ความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา ทั้งที่เลี้ยงบนเครื่องเขย่าและที่อุณภูมิห้อง จากนั้นทำการตรวจสอบลักษณะของเส้นใยโดยกล้องจุลทรรศน์ Environmental scanning electron microscope นำ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ที่

ความเข้มข้น 2% เลี้ยงในอาหารเหลวร่วมกับ *L. theobromae* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในกรรมวิธีที่เลี้ยง *L. theobromae* และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 เส้นใยเชื้อราที่เกิดรอยย่น บิดเบี้ยว และหดตัว ที่เส้นใยมีเซลล์แบคทีเรียเกาะอยู่บางส่วน ในกรรมวิธีควบคุมเส้นใยยังคงพื้นผิวที่เรียบ จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพของ เชื้อ*Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรค CRTRD ในสภาวะเรือนทดลอง ผลการทดลองพบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 008-2 มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดยมีความสูงอยู่ที่ 35.20 ซม. จำนวนใบ 11.25 ความยาวใบ 8.63 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และในการทดลองลำดับสุดท้าย การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ร่วมกับการปลูกพืชแซมเพื่อควบคุมโรค CRTRD และคุณสมบัติของดินในสภาพไร่ ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีและอำเภอเสิงสาง ในปี 2563 (ปีแรก) และปี 2564 (ปีที่สอง) เก็บผลการทดลองการเจริญเติบโตที่อายุ 3 เดือน 6 เดือน 8 เดือนหลังปลูก พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ร่วมกับปลูกพืชแซมโดยใช้ถั่วลิสงพันธุ์ Tinan 9 มีแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงกว่าวิธีการควบคุมที่ 6 และ 8 เดือน หลังปลูก โดยมีความสูงต้น 178.43 และ 264.38 ซม. ตามลำดับ ในปีที่สอง พบว่ากรรมวิธีที่ทำการปลูกพืชแซมโดยใช้ถั่วลิสงพันธุ์ Tinan 9 และใช้ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ยังคงมีแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ที่ 6 และ 8 เดือนหลังปลูก และสามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรครากและหัวเน่ามันได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมทั้ง 2 พื้นที่ปลูก และกรรมวิธีการปลูกพืชแซมโดยใช้ถั่วลิสงพันธุ์ Tinan 9 และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ยังช่วยเพิ่มจำนวนหัวต่อต้นและ น้ำหนักสดของหัวต่อต้น นอกจากนี้ การปลูกพืชแซมโดยใช้ถั่วลิสงพันธุ์ Tinan 9 ร่วมกับ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 ยังเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณแคลเซียม ความเป็นกรด-ด่าง และอินทรียวัตถุหลังทำการปลูก หลังจากนั้นทำการศึกษาการรอดชีวิตของ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT 008-2 ในวัสดุปรับปรุงดิน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ $2.16\pm0.45\times10^{8}$, $1.98\pm0.32\times10^{8}$ และ $1.55\pm0.14\times10^{8}$ CFU/มล. ที่ 1, 2 และ 3 เดือน ตามลำดับ จากนั้นได้ทำการศึกษาความคล้ายคลึงกันระหว่างแบคทีเรียที่รอดชีวิตและ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 โดยใช้อาหารจำเพาะ พบว่าสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีลักษณะเป็นโคโลนีทึบแสงล้อมรอบด้วยเมือกซึ่งคล้ายคลึงกับ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 การค้นพบนี้ ชี้ให้เห็นว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ CaSUT008-2 สามารถเจริญเติบโตในวัสดุปรับปรุงดิน สามารถนำมาควบคุมโรครากและหัวเน่า และเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา .....

ปีการศึกษา 2564 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

KANSINEE LAEMCHIAB : EFFICACY OF *Bacillus* sp. AND INTERCROPPING TO CONTROL ROOT AND TUBER ROT DISEASES OF EDIBLE CASSAVA cv. PIRUN 2. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. DR. NATTHIYA BUENSANTEAI, 83 PP.

Keyword : Cassava/ Edible cassava/Root and tuber rot disease/Bacillus/Intercropping

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an important tuber crop, which is often used as feed and primary starch. The increasing disease severity and pathogen diversity are the main problem in cassava production. Cassava root and tuber rot disease or CRTRD causes yield loss up to 80%. The objectives of this study were to investigate the antagonistic effects of *Bacillus* sp. and intercropping to control the CRTRD. First, pathogenicity tests of CRTRD causal agents were carried out on cassava healthy plants. The results showed that the fungi infection caused dry-rot lesions on the cassava stem, with scoring at 4 because 50 to 75% of stem area and tuber was affected. Next, the effect of *Bacillus* sp. strain CaSUT008-2 as a biological control agent against *L. theobromae* was studied. The results showed that *Bacillus* sp. strain CaSUT008-2 could inhibit mycelial growth of *L. theobromae* at 5 days after incubation. The percentage inhibition was approximately 53.08%. Moreover, *Bacillus* sp. strains CaSUT007 and D604 could significantly inhibit mycelia growth by 50.30% and 48.37% compared with the negative control, respectively. Next, the screening of *Bacillus* sp. for high temperature resistance was tested. The results showed that the *Bacillus* sp. CaSUT 008-2, *Bacillus* sp. D604 and *Bacillus* sp. CaSUT007-1 could grow up to 53 °C with survival density $5.26x10^8$, $3.40x10^8$, $3.33x10^8$ CFU/ml, respectively. Furthermore, *Bacillus* sp. for ultraviolet (UV) resistance was also tested. The results showed that the *Bacillus* sp. CaSUT 008-2 highly resisted UV by maintaining a density of 2.40×108 CFU/ml for 6 hours of exposure. Then, an assay for *Bacillus* sp. inhibiting fungal hyphae was conducted. The results showed that the ratio of *Bacillus* sp. strain CaSUT008-2 and *L. theobromae* at 2%, 5% and 10% could inhibit fungal growth in rotary shaker and room temperature conditions. Environmental scanning electron microscope observation indicated that 2% *Bacillus* sp. strain CaSUT008-2 caused the pathogen hyphae to be wrinkled, distorted, and shrunken. The hyphae had bacterial

cells attached to some portions to varying degrees, which increased in number in the treatments with increased ratio of CaSUT008-2. Conversely, in the untreated control, pathogen hyphae looked intact with a smooth surface. Then, the efficacy of *Bacillus* sp. to control CRTRD was tested in greenhouse conditions. The results showed that *Bacillus* sp. strain 008-2 had ability to stimulate growth of cassava to have the height 35.20 cm, number of leaves 11.25, leaf length 8.63 cm, while compared with sterile distilled water. These results indicated that *Bacillus* sp. strain 008-2 had high potential to stimulate growth of cassava. Finally, the efficacy of Bacillus sp. strain CaSUT008-2 and peanut intercropping to control CRTRD and improve soil properties under field conditions was tested at Suranaree University of Technology and Soeng Sang district in 2020 (first year) and 2021 (second year). The results of the experiments on growth were collected at 3, 6 and 8 months after planting (MAP). Combination of Tinan 9 and *Bacillus* strain CaSUT008-2 (CTB) treatment had a higher growth trend than the control methods at 6 and 8 MAP, with plant height at 178.43 and 264.38 cm, respectively. In the second year, the CTB treatment still had a higher growth trend than the control treatment at 6 and 8 MAP. The CRTRD severity (%) of CTB treatment could reduce CRTRD in field and this treatment also increase the number of tubers per plant and tuber fresh weight per plant. Moreover, this CTB treatment was also increased nitrogen content, phosphorus content, potassium content, calcium content, pH and organic matter after cropping. In addition, surviving *Bacillus* sp. strain CaSUT 008-2 in soil amendments was also checked. The optical density of surviving bacteria was $2.16\pm0.45\times10^8$, $1.98\pm0.32\times10^8$, and $1.55\pm0.14\times10^8$ CFU/ml, at 1, 2 and 3 months respectively. The morphology of surviving bacteria was opaque colony surrounded by mucus, similar to the bacteria mixed in the soil. This finding suggested that *Bacillus* sp. strain CaSUT 008-2 was able to grow in the soil amendments and can be used for reducing CRTRD and enhancing cassava yield.

School of Crop Production Technology Student's Signature Kansinee Laemchiab

Academic Year 2021 Advisor's Signature .....