ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว

Efficacy of Dry Formulation Antagonistic to Inhibit a Causal Agent of Bacterial Leaf Blight of Rice.

สุกัญญา พุ่มคง[1] และ สุวิชญา บัวชาติ[1*]

Sukanya Phumkhong[1] and Suwichaya Buachad[1*]

[1]69 หมู่ 1 โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร 62000

[1]69 Moo 1 Biology Program, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University, 62000, Thailand.

*Corresponding author: suwichaya.gift@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว โดยการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6, Kl7, Ks5 และ pt2 มาทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อนำไปผลิตผงชีวภัณฑ์พบว่าผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Ks5 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 บริเวณการยับยั้งกว้าง 1.46, 1.23 และ 1.60 เซนติเมตร ส่วนผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ Ks5 สามารถนำมาพัฒนาเป็นผงชีวภัณฑ์และรักษาเซลล์แบคทีเรียให้อยู่รอดที่ $4x10^4$ CFU/ml เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดี และมีกลไกการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทั้ง 2 แบบ คือ การสร้างสารปฏิชีวนะ และภาวะแก่งแย่งแข่งขัน

คำสำคัญ: โรคขอบใบแห้ง, เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, ผงชีวภัณฑ์, การทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง

ABSTRACT

Efficacy of dry formulation antagonistic to inhibit a causal agent of bacterial leaf blight of rice. Antagonistic Bs6, Kl7, Ks5 and pt2 were tested for morphological, biochemical and antagonistic efficacy. The formulation from Ks5 was the most effective growth inhibit bacteria pathogen at concentration 0.2, 0.4 and 0.6 % with 1.46, 1.23 and 1.60 cm., respectively. The formulation from Bs6 could not inhibit bacteria pathogen at concentration 0.2, 0.4 and 0.6 %. Ks5 was adapted to the development of dry formulation and, remarkably, this was successful as a carrier to maintain bacterial survival with $4x10^4$ CFU/ml. Because dry formulation Ks5 was mechanisms to inhibit pathogens that antibiotics and competition.

Keywords: bacterial leaf blight disease, antagonist bacteria, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, biological powder, freeze dehydration

บทนำ

ข้าวเป็นพืชมีความสำคัญต่อชีวิตความเป็นอยู่ของมนุษย์มากโดยเฉพาะคนเอเชีย ซึ่งมีการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ข้าวจึงนับว่ามีความสำคัญต่อชีวิตและความเป็นอยู่ของมนุษย์นับแต่อดีตถึงปัจจุบัน แต่การเพาะปลูกข้าวของประเทศไทยยังคงประสบปัญหาทำให้ผลผลิตต่ำ เช่น ปัญหาโรคข้าว แมลงศัตรูพืช วัชพืช ดิน น้ำ และพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรค โรคขอบใบแห้งในข้าว (bacterial leaf blight) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบท่อนสั้นปลายมน มี flagella 1 เส้น (Ghasemie *et al*., 2008) พบอาการได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงออกรวงส่งผลกระทบต่อการผลิตและคุณภาพของข้าวลดลง (Chanlakhon *et al*., 2561) ปัจจุบัน การป้องกันและกำจัดโรคขอบใบแห้งในข้าวโดยการใช้สารเคมีเป็นที่นิยมของเกษตรกรเนื่องจากสามารถควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็ว แต่จะส่งผลเสียที่ตามมาคือ สารเคมีตกค้างในผลผลิต ปัญหาสิ่งแวดล้อม ปัญหาสุขภาพของเกษตรการและผู้บริโภค อีกทั้งเชื้อโรคยังสามารถต้านทานสารเคมีได้ การควบคุมพืชโดยชีววิธี (biological control หรือ biocontrol) โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส ที่มีความสามารถในการแข่งขัน (competition) ทางด้านแหล่งแร่ธาตุ อาหาร และแหล่งที่อยู่อาศัย การเป็นปรสิต (parasite) รวมถึงการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่น (Campbell, 1989) มาใช้ในการควบคุมหรือกำจัดแมลงศัตรูพืช รวมทั้งโรคพืชต่างๆ ได้หลายชนิด ปัจจุบันนิยมทำชีวภัณฑ์แบบผงโดยการนำมาทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) วิธีนี้ใช้ได้กับแบคทีเรีย ยีสต และรา เพราะนิยมใช้กับการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณมาก ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว สำหรับเป็นแนวทางการใช้งานจริงในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6, Kl7, Ks5 และ pt2 จากโปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร มาศึกษาสัณฐานวิทยาโดยดูลักษณะเซลล์ การย้อมสีแกรม และการย้อมสีสปอร์ การศึกษาทางชีวเคมี คือ การผลิตเอนไซม์คะตะเลส

ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ Bs6, Kl7, Ks5 และ pt2 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) pt (ที่แยกได้จากข้าวเป็นโรคขอบใบแห้งในข้าว) ด้วยวิธี agar diffusion นำแบคทีเรียก่อโรคมา spread บนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) จากนั้นเจาะหลุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ cork borer ที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร หยดแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6, Kl7, Ks5 และ pt2 10 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมบ่มที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมงตรวจสอบการเกิดบริเวณยังยั้ง (inhibition zone) บนผิวหน้าอาหารทดสอบ (Pupakdeepan and Prathuangwong, 2009) จากนั้นทำการทดสอบด้วยวิธี cross streak assay นำแบคทีเรียสาเหตุของโรค และแบคทีเรียปฏิปักษ์ขีดตามเส้นบนอาหาร NGA เพื่อสังเกตการบุกรุกของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อแบคทีเรียสาเหตุของโรคขอบใบแห้งในข้าว

การเตรียมผงชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้จากการคัดเลือกข้างต้นมาเตรียมหัวเชื้อในอาหาร nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำตะกอนเซลล์มาปรับให้มีความขุ่นที่ 0.4 ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ทำการละลาย skim milk ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ทำการผสมให้เข้ากัน นำไปทำแห้งโดยใช้เครื่อง freez dryer กำหนด

ค่าอุณหภูมิเป็น -37 องศาเซลเซียส ความดัน 0.1 mbar เวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างผงเชื้อแล้วบรรจุผงเชื้อที่ได้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

นำผงชีวภัณฑ์ 1 กรัม ผสมกับ peptone water 0.1 % w/v ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นทำการเจือจางในระดับ 10^{-1} - 10^{-6} นำตัวอย่างที่ระดับความเจือจางเหมาะสม spread ลงบนอาหาร NGA ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว

นำเชื้อผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งที่มีแนวโน้มในการผลิตสารทุติยภูมิออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคขอบใบแห้งด้วยวิธี agar diffusion โดยนำผงชีวภัณฑ์ 1 กรัม ผสมกับ peptone water 0.1 %w/v ปริมาตร 10 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.2, 0.4 และ 0.6 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากนั้นทำการทดสอบด้วยวิธี cross streak assay โดยวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แต่เปลี่ยนจากเชื้อปฏิปักษ์เป็นสารละลายผงชีวภัณฑ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6, Ks5 และ pt2 จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา มีรูปร่างเป็นท่อน แกรมบวก มีการผลิตเอนไซม์คะตะเลส และสร้างสปอร์ จัดอยู่ในกลุ่มจีนัส *Bacillus* ดังTable 1 และFigure 1 สอดคล้องกับ Koedprang and Chalad (2015) แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* จะมีรูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแกรมบวก มีการสร้างสปอร์ สร้างแคปซูล และการผลิตเอนไซม์คะตะเลส เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จีนัส *Bacillus* เป็นกลุ่มที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อ สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper *et al*., 2004)

ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งด้วยวิธี agar diffusion พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Ks5 ยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ดีที่สุด โดยบริเวณการการยับยั้งกว้าง 1.46 เซนติเมตร ดังTable 2 Kaewcheed (2002) ที่ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท SPR31 SPR39 CPL11 DAR33 และ SPR32 แสดงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคได้สูงสุดโดยให้ความกว้างบริเวณใส 15.5 14.5 13.5 8.7 และ 7.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* มีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่สำคัญ คือ สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ เช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin (Shoda, 2000) ทำการทดสอบด้วยวิธี cross streak assay พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 และ Ks5 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ ส่วนแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Kl7 และ pt2 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ ดังTable 2 แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* บางชนิด เมื่ออยู่ในสภาพที่ขาดธาตุเหล็กสามารถสร้างสาร siderophore ได้ ซึ่งสารดังกล่าวจะไปจับกับ ferric iron แล้วเคลื่อนย้ายเข้าสู่ตัวรับ (receptor) ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ (Hu and Boyer, 1996) ซึ่งจะรบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืช ที่อยู่บริเวณเดียวกัน ทำให้การเกิดโรคของพืชลดลง (Shoda, 2000) จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 วิธี

จะพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Ks5 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ดีที่สุด และรองลงมาคือแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6

ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 และ Ks5 ทำแห้งโดยใช้เครื่อง freez dryer จะได้ผงชีวภัณฑ์ลักษณะเป็นผงแห้ง มีสีเหลืองอ่อน หรือสีขาว พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของ Bs6 และ Ks5 หลัง freez dry (2.86×10^5 และ 4.86×10^4) ใกล้เคียงกับก่อน freez dry (2.11×10^5 และ 1.06×10^4) แสดงให้เห็นว่าวิธีการ freez dry สามารถรักษาจำนวนจุลินทรีย์ได้ดี ดังTable 3 Thomma และ Sirithorn (2013) ได้ผลิตชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli* โดยใช้ skim milk ในการเก็บรักษาเชื้อและใช้วิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) พบว่ามีจำนวนเซลล์ *B. subtilis* B076 คงเหลือ 8.6×10^7 ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Ks5 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์บริเวณการยับยั้งกว้าง 1.46, 1.23 และ 1.60 เซนติเมตร ส่วนผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4 โดยผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 และ Ks5 สามารถบุกรุกเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งได้ทั้ง 2 สูตร คาดว่าผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6 จะไม่เหมาะสมกับสำหรับการทำผงชีวภัณฑ์โดยวิธีการ freez dry แสดงให้เห็นว่าผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Ks5 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวได้ดีกว่าผงชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ Bs6

สรุป

ผงชีวภัณฑ์เชื้อ *Bacillus* sp. Ks5 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) pt สาเหตุก่อโรคขอบใบแห้งในข้าวดีที่สุด และเหมาะสมจะนำไปพัฒนาเป็นผงชีวภัณฑ์ต่อไป เพราะสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดี และมีกลไกการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทั้ง 2 แบบ คือ การสร้างสารปฏิชีวนะ และภาวะแก่งแย่งแข่งขัน

เอกสารอ้างอิง

Campbell, R. 1989. Biological Control of Microbial Plant Pathogens. Cambridge : Cambridge University Press, NY, USA. 218 pp.

Chanlakhon, A., P. Thammabenjapon and J. Sanitchon. 2012. Evaluation of resistance to bacterial leaf blight in low land rice germplasm. Khon Kaen Agr. J., 40 (4): 48 – 52. (in Thai)

Ghasemie, E., MN. Kazempour and F. Padasht. 2008. Isolation and identification of *Xathomonas oryzae* pv. *oryzae* the causal agent of bacterial blight of rice in Iran. J Plant Prot Res, 48 (1): 53 – 62.

Hu, X. and G.L. Boyer. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake *by Bacillus megaterium* ATTCC 19213. Appl. Environ. Microbiol. 11: 4044 – 4048.

Kaewcheed, S. 2002. Selection of antagonistic bacteria for the control of rice leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. MS Thesis, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

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.

Koedprang, W and C. Chalad. 2015. Indigenous microorganism in aquaculture area based on natural farming principles, case study: freshwater aquaculture farm, faculty of science and fisheries technology, rajamangala university of technology srivijaya, trang campus, Rmutto Journal, 8 (1): 52 – 57. (in Thai)

Pupakdeepan, W. and S. Prathuangwong. 2009. Formulation development of new bacterial antagonist and control efficacy against bacterial leaf blight of rice. Proceedings of 48th kasetsart university annual conference: plants. 207 – 214. (in Thai)

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. J. Biosci. Bioeng. 89: 515 – 521.

Thomma, K. and P. Sirithorn. 2013. Formulation of bacterial antagonist *Bacillus subtilis* B076 for seed coating and spraying to control *Acidovorax avenae* subsp. Citrulli. KHON KAEN AGR. J., 41 (SUPPL. 1): 339 – 345. (in Thai)

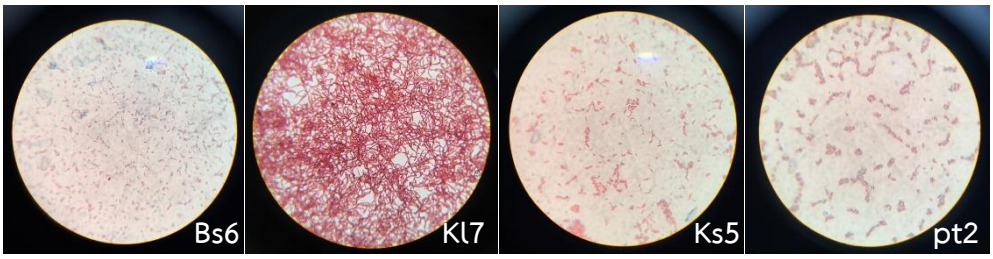

Figure 1 A stained preparation of the cell antagonist bacteria showing endospores as green and the vegetative cell as red.

Bacillus sp. Bs6 *Bacillus* sp. Ks5

Figure 2 Dry formulation antagonistic of *Bacillus* sp. Bs6 and *Bacillus* sp. Ks5.

Table 1 Morphology and chemical analysis of antagonist bacteria.

Strains	Shape	Gram staining	Spore	Catalase test
Bs6	Rod	+	+	+
Kl7	Spiral	-	-	-
Ks5	Rod	+	+	+
pt2	Rod	+	-	+

Table 2 Efficacy of antagonist bacteria to inhibit *Xanthomonas oryzae* pv. Xoo pt.

Strains	agar diffusion (cm.)	cross streak assay
Bs6	1.00 ± 0.00[b]	+
Kl7	0.93 ± 0.11[b]	-
Ks5	1.46 ± 0.05[a]	+
pt2	1.00 ± 0.22[b]	-

Different letters within a column indicate differences determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 percent level of significance.

Table 3 Growth of dry formulation antagonistic

Formulation	Pre freez dry (cfu/ml)	Post freez dry (cfu/ml)
Bacillus sp. Bs6	2.11×10^{5}	2.86×10^{5}
Bacillus sp. Ks5	1.06×10^{4}	4.86×10^{4}

Table 4 Inhibition of dry formulation antagonistic at different concentrations against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) pt.

Formulation	Inhibition zone (cm.)		
	0.2 %	0.4 %	0.6 %
Bacillus sp. Bs6	0.00±0.00[b]	0.00±0.00[b]	0.00±0.00[b]
Bacillus sp. Ks5	1.46±0.15[a]	1.23±1.11[a]	1.60±0.10[a]

Different letters within a column indicate differences determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 percent level of significance.

Table 5 Competition of bacterial against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) pt.

Formulation	Competition
Bacillus sp. Bs6	+
Bacillus sp. Ks5	+