ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธี

Efficency of Antagonistic Microorganisms to control Potato Late Blight

นางวิมล แก้วสีดา[๑/] นายสุรชาติ คูอาริยะกุล[๑/]

บทคัดย่อ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธี ตั้งแต่ตุลาคม ๒๕๕๔ ถึง กันยายน ๒๕๕๗ เพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อรา *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้มันฝรั่ง โดยเก็บตัวอย่างต้นมันฝรั่ง และดินในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขต อ.พบพระ จ.ตาก จำนวน ๒๕ ตัวอย่าง อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ จำนวน ๕ ตัวอย่าง อ.แม่สรวย จ.เชียงราย จำนวน ๑๒ ตัวอย่าง มาแยกนำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อยู่บริเวณรอบรากและผิวใบต้นมันฝรั่ง โดยใช้ตัวอย่างพืชและดิน จำนวน ๑ และ ๑๐ กรัม ตามลำดับ ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ ๑๐๐ มล. เจือจางด้วยวิธี dilution plating techniques บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar medium (NA) ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ๑๐๓ ไอโซเลท และจำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus* sp. ๑๖ ไอโซเลท และนำเชื้อ *Bacillus* sp. ๑๖ ไอโซเลท ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เชื้อ *Bacillus* sp. ๕ ไอโซเลท คือ TK๐๕ , TK๐๘ , CR๐๑, CR๐๒ และ CR๐๔ สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการยับยั้งเชื้อรา *P infestant* โดยวิธี detached potato leaves บนใบมันฝรั่ง พบว่า เชื้อ *Bacillus* sp. เพียง ๓ ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้ แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็ไม่ได้สูงมากนัก และผลการทดสอบการรควบคุมโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ของเชื้อ *Bacillus* sp. ทั้ง ๓ ไอโซเลท พบว่า ไม่สามารถควบคุมเชื้อรา *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่งได้

รหัสการทดลอง ๐๑ – ๓๖ – ๕๔ – ๐๓ – ๐๑ - ๐๐ – ๐๓ - ๕๕

[๑/] ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

คำนำ

มันฝรั่ง (*Solanum tubersum* L.) เป็นพืชอุตสาหกรรมชนิดหนึ่งที่ทำรายได้สูงให้แก่เกษตรกร ปีหนึ่งนับมูลค่าหลายพันล้านบาท เนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชที่ให้ผลผลิตสูงมีช่วงอายุปลูกสั้น และขายได้ราคา มี

อุตสาหกรรมรองรับ ปัจจุบันการผลิตมันฝรั่งในประเทศไทย ยังไม่พอเพียงกับความต้องการของโรงงานแปรรูป ทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นทุกปี แหล่งปลูกพืชส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ ซึ่งมีสภาพอากาศหนาวเย็นเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่ง จังหวัดที่มีการปลูกมากที่สุดคือจังหวัดเชียงใหม่ รองลงมาได้แก่ จังหวัดตาก ลำพูน ลำปาง เชียงราย และมีพื้นที่ปลูกเล็กน้อยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่จังหวัด หนองคาย สกลนคร และเลย

อย่างไรก็ตามการปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย มักประสบปัญหาการระบาดของโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ โรคไวรัส โรคใบไหม้ โรคเหี่ยวเขียว และไส้เดือนฝอยรากปม ทำให้ผลผลิตต่ำและคุณภาพไม่ดี โดยเฉพาะโรคใบไหม้ เมื่อพบการระบาดรุนแรงต้นมันฝรั่งจะตายก่อนการลงหัวทำให้ไม่ได้ผลผลิต นอกจากนี้เกษตรกรนิยมปลูกมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic เพื่อส่งโรงงานแปรรูป ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคใบไหม้ ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้จึงมุ่งเน้นการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรค ทำให้ต้นทุนการผลิตของเกษตรกรเพิ่มขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชนับวันแต่จะแพงขึ้น การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีนับเป็นทางเลือกใหม่ ซึ่งจะช่วงลดการใช้สารเคมีในการผลิตทางการเกษตร นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มระบบการเกษตรแบบยั่งยืน

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

๑. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สุ่มเก็บตัวอย่างต้นมันฝรั่ง และดินในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขตจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ตาก มาแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อยู่บริเวณรอบรากและผิวใบต้นมันฝรั่ง โดยใช้ตัวอย่างพืชและดิน จำนวน ๑ และ ๑๐ กรัม ตามลำดับ ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ ๑๐๐ มล. โดยวิธี dilution plating techniques บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar medium (NA) ความเข้มข้นลดครึ่งที่ส่วนผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา cyclohexamide ๑๐๐ ppm เก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บริสุทธิที่แยกได้ นำมาแยกให้ได้โคโลนีเดี่ยว เก็บ culture เชื้อไว้ในหลอดเลี้ยงเชื้อเพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

๒. ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ใน stock culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA นาน ๒-๓ วัน ที่อุณหภูมิ ๒๐°C โดยการเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ๑๐๐ μl ที่โคโลนีเชื้อแล้วผสมให้เข้ากัน หยดสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จำนวน ๕μl บนอาหารเลี้ยงเชื้อ clearified rye agar (CRA) และ V-๘-potato dextrose agar (V๘-PDA) จำนวน ๔ จุด บริเวณขอบจานเลี้ยงเชื้อให้แต่ละจุดทำมุม ๙๐° ต่อกันจากนั้นย้ายเส้นใยเชื้อราบนชิ้นอาหารวุ้น *P. infestans* ขนาด ๕ มม. วางบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ ๒๐°C วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเมื่อโคโลนีของเชื้อราเปรียบเทียบ (control) เจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* จากสูตร [๑] % relative growth = (B/P)x๑๐๐

โดย B และ P = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี *P. infestans* ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (control) ตามลำดับ

๓. ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* โดยวิธี detached potato leaves

๓.๑ การใช้เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ให้มีความเข้มข้น ๑๐^{๕} หน่วยโคโลนี/มล. จุ่มใบย่อยของมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ลงในสารละลายเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๕ ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย zoospores เชื้อรา *P. infestans* เข้มข้น ๑๐^{๔} เซลล์/มล. จำนวน ๒๐ μl ด้านใต้ใบย่อย บ่มใบย่อยที่ทดลองในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ > ๙๕%

๓.๒ การใช้สารปฏิชีวนะในน้ำกรองอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth, NB) นาน ๓ วัน บนเครื่องเขย่า ๑๕๐ รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเหวี่ยงเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนที่ ๔๕๐๐ รอบต่อนาที ถ่าย supernatant ใส่ขวดและแช่แข็งไว้ เพื่อรอการศึกษาโดยมี ๔ กรรมวิธี ดังนี้ ๑.) จุ่มน้ำก่อนแล้วหยอดน้ำตาม (WW) ๒.) จุ่มน้ำก่อนแล้วหยอดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรค (WP) ๓.) จุ่มเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนแล้วหยอดน้ำตาม (BW) และ ๔.) จุ่มเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนแล้วหยอดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคตาม (BP)

ศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* จากพื้นที่ใบที่ถูกทำลายด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ

จากสูตร [๒] % inhibition = ๑๐ – [(BP/WP)x๑๐๐]

โดย BPและWP=พื้นที่ใบที่เป็นโรคที่จุ่มใบย่อยด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วตามลำดับ กำหนดระดับการเกิดโรค ๑ = ใบเป็นโรค <๑๐%, ๒ = ใบเป็นโรค ๑๐-๒๐%, ๓ = ใบเป็นโรค ๒๑-๔๐%, ๔ = ใบเป็นโรค ๔๑-๗๕% และ ๕ = ใบเป็นโรค >๗๕%

๔.ศึกษาการควบคุมโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่ง

เตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ให้มีความเข้มข้น ๑๐^{๕} หน่วยโคโลนี/มล. จำนวน ๑๕ มล. จากนั้นเกลี่ยสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดังกล่าวจำนวน ๑.๐ มล. บนผิวใบของต้นมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic อายุ ๖ สัปดาห์ ที่ปลูกในถุงพลาสติกดำ ขนาด ๘x๑๒ นิ้ว บนใบย่อยบริเวณปลายช่อและใบย่อยที่อยู่ส่วนโคนช่อ จำนวนอย่างละ ๑ ใบ ที่ตำแหน่งใบที่ ๔ นับจากใบเพสลาดใบแรก โดยทดลองกับต้นมันฝรั่ง จำนวน ๓ ลำในหนึ่งต้น เปรียบเทียบกับใบที่ทาด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็น Control ศึกษากับต้นมันฝรั่งจำนวน ๕ ต้น บ่มต้นมันฝรั่งไว้นาน ๒๔ ชั่วโมงที่อุณหภูมิ ๑๗-๒๒°C จากนั้นปลูกเชื้อรา *P. infestans* โดยหยดสารละลาย zoospore จำนวน ๑๕ μl จำนวน ๔ จุด ลงบนใบที่ปลูกเชื้อด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และใบเปรียบเทียบ ภายหลังปลูกเชื้อนำไปบ่มใน moist chamber (๑๐๐%RH) เป็นเวลา ๔๘ ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ ๑๗-๒๒ °C ตรวจศึกษาพื้นที่ใบที่เป็นโรคภายหลังการปลูกเชื้อ คำนวณเปอร์เซ็นต์การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้จากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนใบที่ปลูกเชื้อ (local protection) และใบที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (systemic protection)

จากสูตร [๓] % local protection = ๑๐๐ – [(BPt/Pt)x๑๐๐]

โดย BPt = พื้นที่ใบที่เป็นโรคที่ปลูกเชื้อก่อนด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ แล้วปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. infestans* และPt = พื้นที่ใบเป็นโรคที่ปลูกเชื้อก่อนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. infestans*

จากสูตร [๔] % systemic protection = ๑๐๐ – [(BPu/Pu)x๑๐๐]

โดย BPu = พื้นที่ใบที่เป็นโรคที่ไม่ได้ปลูกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. infestans* (ในต้นที่ปลูกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์) และ Pu = พื้นที่ใบที่เป็นโรคที่ไม่ได้ปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. infestans* (จากต้นที่ใช้เปรียบเทียบ)

๕. การจำแนกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จำแนกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธี โดยมีขั้นตอนดังนี้ ๑.) Gram stain ๒.) Biolog universal growth (BUG) agar medium โดยการหยดสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จำนวน ๑๕๐ μl ลงใน ๙๕ wells ใน Biolog microplates บ่มไว้ที่อุณหภูมิ ๓๒°C นาน ๑๖-

๒๔ ชั่วโมง จากนั้นอ่านผลด้วยสายตาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน เพื่อจำแนกสกุลและพันธุ์ชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าว

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด)

ตุลาคม ๒๕๕๔ – กันยายน ๒๕๕๗ รวม ๓ ปี

สถานที่ดำเนินการ

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

ผลการทดลองและวิจารณ์

๑. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างต้นมันฝรั่ง และดินในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขต อ.พบพระ จ.ตาก จำนวน ๒๕ ตัวอย่าง อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ จำนวน ๕ ตัวอย่าง อ.แม่สรวย จ.เชียงราย จำนวน ๑๒ ตัวอย่าง มาแยกนำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อยู่บริเวณรอบรากและผิวใบต้นมันฝรั่ง โดยใช้ตัวอย่างพืชและดิน จำนวน ๑ และ ๑๐ กรัม ตามลำดับ ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ ๑๐๐ มล. เจือจางด้วยวิธี dilution plating techniques บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar medium (NA) ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus* sp. ดังตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากตัวอย่างมันฝรั่งและดินในแปลงปลูกจากแหล่งต่างๆ

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างจากแปลงปลูก	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด	จำนวนเชื้อ *Bacillus* sp
ตาก	๒๕	๕๔	๘
เชียงราย	๑๒	๓๘	๔
เชียงใหม่	๕	๑๑	๔

โดยให้รหัสของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากแหล่งต่างๆดังนี้
เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จาก จ.ตาก ให้รหัสคือ TK๐๑, TK๐๒, TK๐๓, TK๐๔, TK๐๕, TK๐๖, TK๐๗ และ TK๐๘
เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จาก จ.เชียงใหม่ ให้รหัสคือ CM๐๑, CM๐๒, CM๐๓ และ CM๐๔
เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จาก จ.เชียงราย ให้รหัสคือ CR๐๑,CR๐๒, CR๐๓, CR๐๔

ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บริสุทธิที่แยกได้ นำมาแยกให้ได้โคโลนีเดี่ยว เก็บ culture เชื้อไว้ในหลอดเลี้ยงเชื้อเพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ส่วนมันฝรั่งที่แสดงอาการใบไหม้ ได้แยกเชื้อ *P. infestans* ให้บริสุทธิ์ แยกเก็บในอาหาร PDA เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

๒. ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บจาก พบว่าตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จาก อ.พบพระ สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้ ๒ ไอโซเลท คือ TK๐๕ และ TK๐๘ ตัวอย่างจาก อ.ไชยปราการ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้ และตัวอย่างจาก อ.แม่สรวย สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้ ๓ ไอโซเลท คือ CR๐๑, CR๐๒ และ CR๐๔ ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ ๒ แสดงความสามารถยับยั้งเชื้อรา *P infestant* ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ไอโซเลทเชื้อ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อรา *P infestant* (cm.)	อัตราการเจริญของเชื้อรา *P infestant* (%)
TK๐๑	๔.๓	๘๖
TK๐๒	๔.๕	๙๐
TK๐๓	๔.๒	๘๔
TK๐๔	๔.๗	๙๔
TK๐๕	๒.๕	๕๐
TK๐๖	๔.๘	๙๖
TK๐๗	๔.๘	๙๖
TK๐๘	๒.๔	๔๘
CM๐๑	๔.๘	๙๖
CM๐๒	๔.๘	๙๖
CM๐๓	๔.๒	๘๔
CM๐๔	๔.๖	๙๒
CR๐๑	๒.๐	๔๐
CR๐๒	๒.๔	๔๘
CR๐๓	๔.๘	๙๖
CR๐๔	๒.๖	๕๒
น้ำกลั่น (control)	๕.๐	๑๐๐

๓. ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* โดยวิธี detached potato leaves

ผลการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้ง ๕ ไอโซเลท คือ ไอโซเลท TK๐๕, TK๐๘, CR๐๑, CR๐๒ และ CR๐๔ ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* โดยวิธี

detached potato leaves พบว่า TK๐๕, CR๐๑ และ CR๐๒ สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้เมื่อเทียบกับ control ดังตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ แสดงผลการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* โดยวิธี detached potato leaves

ไอโซเลทเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ผลการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* (%)
TK๐๕	๖๕
TK๐๘	๑๓
CR๐๑	๘๒
CR๐๒	๗๘
CR๐๔	๒๓
น้ำกลั่น (control)	๐

๔. ศึกษาการควบคุมโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่ง

ผลการควบคุมโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่งของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ๓ ไอโซเลท คือ TK๐๕, CR๐๑ และ CR๐๒ ไปทดสอบการควบคุมเชื้อรา *P. infestans* บนต้นมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic อายุ ๖ สัปดาห์ ที่ปลูกในถุงพลาสติกดำ ขนาด ๘x๑๒ นิ้ว พบว่า *Bacillus* sp. ทั้ง ๓ ไอโซเลท ไม่สามารถควบคุมเชื้อรา *P. infestans* ได้เมื่อเทียบกับ control ดังตารางที่ ๔

ตารางที่ ๔ แสดงผลการควบคุมเชื้อรา *P. infestans* บนต้นมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic

ไอโซเลทเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ผลการควบคุมเชื้อรา *P. infestans* (%)
TK๐๕	๑๑
CR๐๑	๒๐
CR๐๒	๑๗
น้ำกลั่น (control)	๐

ผลของปัจจัยอื่น เช่น อุณหภูมิ หรือ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ที่อาจทำให้เชื้อ *Bacillus* sp. เจริญได้ไม่มากพอที่จะยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้เมื่อเทียบกับการยับยั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้ ดังนั้น การป้องกันกำจัดโดยชีววิธีปฏิบัติโดยการใช้จุลินทรีย์ ที่มีชีวิตอยู่หรือผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถป้องกันโรคได้ประกอบด้วยหนึ่งวิธีหรือมากกว่า ได้แก่ ๑.) การผลิตสารปฏิชีวนะ หรือเซลล์ของจุลินทรีย์ไปทำลายเชื้อโรคโดยตรง ๒.) การแก่งแย่งสารอาหารและพื้นที่กับเชื้อโรค หรือ ๓.) การกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน จากผลของกลไกการทำงานที่มีความหลากหลายดังกล่าว จึงเป็นการยากที่จะเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการคัดเลือก

จุลินทรีย์หรือสิ่งที่นำมาใช้ควบคุมโดยชีววิธี จากการศึกษาเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ กระทำโดย ๑.) การยับยั้งเชื้อโรคบนอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ ๒.) การป้องกันเมล็ดพันธุ์ ต้นกล้า ต้นพืช หรือผลก่อนที่จะมีการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่นำมาควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงมีลักษณะนอกเหนือไปจากการป้องกันต่อการติดเชื้อ แต่จะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และเข้าไปอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชควบคู่ไปด้วย อย่างไรก็ตามระบบที่ทดสอบมักจำกัดเพียงการคัดเลือกหนึ่งหรือสองวิธีเท่านั้น นอกจากนั้นการศึกษาคัดเลือกส่วนใหญ่มุ่งเน้นถึงประสิทธิภาพในการควบคุมโดยชีววิธี ในขณะที่มีน้อยมากที่ศึกษาประสิทธิภาพควบคู่ไปกับกลไกการทำงาน การศึกษาเพื่อควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธียังมีน้อย การเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการคัดเลือกจุลินทรีย์หรือสิ่งที่นำมาใช้ควบคุมโดยชีววิธีที่ดีที่สุดจึงเป็นสิ่งท้าทาย เนื่องจากเป็นการยากที่จะคาดเดาว่าการทดสอบวิธีไหนที่สามารถคัดเลือกกรรมวิธีที่ดีที่สุดโดยไม่ทราบกลไกการทำงานของกรรมวิธีที่ศึกษาอยู่ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมีการศึกษาโดยหลาย ๆ วิธีรวมกัน เช่น ศรีไพร อินมาก และเกษม สร้อยทอง รายงานการใช้เชื้อรา *Chaetomium* เพื่อป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธี พบว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดังกล่าวมีผลทำให้โรคใบไหม้ลดลง ๓๔.๔% และปริมาณเชื้อรา *P. infestans* ในดินลดลง ๕๖.๕% ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ๔๙.๑% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งสารสกัดหยาบของเชื้อรา *Chaetomium* sp. และ *Trichoderma* sp. มีผลไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันของพืชต่อการเกิดโรค (Suwan *et al.,* ๒๐๐๐) นอกจากนี้ Daayf *et al* (๒๐๐๓) ยังรายงานการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus, Pseudomonas, Rahnella,* และ *Seratia* สำหรับควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยชีววิธี

เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่สามารถควบคุมโรคใบไหม้ในต้นมันฝรั่งได้จึงไม่ได้ดำเนินการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากตัวอย่างต้นมันฝรั่ง และดินในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขต อ.พบพระ จ.ตาก จำนวน ๒๕ ตัวอย่าง อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ จำนวน ๕ ตัวอย่าง อ.แม่สรวย จ.เชียงราย จำนวน ๑๒ ตัวอย่าง มาแยกนำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อยู่บริเวณรอบรากและผิวใบต้นมันฝรั่ง โดยใช้ตัวอย่างพืชและดิน จำนวน ๑ และ ๑๐ กรัม ตามลำดับ ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ ๑๐๐ มล. เจือจางด้วยวิธี dilution plating techniques บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar medium (NA) ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ๑๐๓ ไอโซเลท และจำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus* sp. ๑๖ ไอโซเลท และนำเชื้อ *Bacillus* sp. ๑๖ ไอโซเลท ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

พบว่า เชื้อ *Bacillus* sp. ๕ ไอโซเลท คือ TK๐๕ , TK๐๘ , CR๐๑, CR๐๒ และ CR๐๔ สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการยับยั้งเชื้อรา *P infestant* โดยวิธี detached potato leaves บนใบมันฝรั่ง พบว่า เชื้อ *Bacillus* sp. เพียง ๓ ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. infestans* ได้ แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็ไม่ได้สูงมากนัก และผลการทดสอบการรควบคุมโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ของเชื้อ *Bacillus* sp. ทั้ง ๓ ไอโซเลท พบว่า ไม่สามารถควบคุมเชื้อรา *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้บนต้นมันฝรั่งได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานทดลองนี้ให้ลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ศรีไพร อินมาก และเกษม สร้อยทอง. การใช้คีโตเมียมควบคุมโรคเลทไบท์ของมันฝรั่ง (http:///www.scisoc.or.th//stt/๒๘/web/content/R-๑๘/R๑๔.htm) สืบค้นวันที่ ๒๓ สิงหาคม ๒๕๕๓

Daayf, F., L. Adam and W.G.D. Fernando. ๒๐๐๓. Comparative screening of bacteria for biological control of potato late blight (strain US-๘), using in vitro, detached-leaves, and whole-plant testing systems. Can. J. Plant Pathol. ๒๕: ๒๗๖-๒๘๔.

Suwan, S., M. Isobe, S. Kanokmedhakul, N. Lourit, K. Kanokmedhakul, K. Soytong and K. Koga. ๒๐๐๐. J. Mass Spectrometry ๓๕: ๑๔๓๘-๑๔๕๑.