การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมา โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Control of Phatumma bacterial wilt disease by antagonist bacteria

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] วิภาดา ทองทักษิณ[2/] สุธามาศ ณ น่าน[3/]

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2/ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

3/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

การแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากดิน รากพืช และปุ๋ยคอกจากพืช จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง กาญจนบุรี ปทุมธานี นนทบุรี ชุมพร และนครปฐม จำนวน 50 ตัวอย่าง ได้แบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 135 ไอโซเลท นำแบคทีเรียที่แยกได้ไปคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในห้องปฏิบัติการ สามารถคัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 8 ไอโซเลท คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24, BS-DOA 69, BS-DOA 97, BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 BS-DOA 125และ BS-DOA 132 นำแบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลท ได้แก่ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ถึงร้อยละ 60 เมื่อนำแบคทีเรีย ทั้ง 4 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลอง พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์เพียง 2 ไอโซเลท ได้แก่ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคได้ร้อยละ 43.33 และ 41.33 ตามลำดับ เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้ง 2 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงเกษตรกร เป็นเวลา 2 ปี (2551-2552) โดยทดสอบในพื้นที่เดิม พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด โดยในปี 2551 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรได้ร้อยละ 48.67 โดยเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 51.33 และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ถึง 506.67 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะกรรมวิธีควบคุมเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 62.67 เก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียง 142.22 กิโลกรัม/ไร่ และในปี 2552 กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์4 BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ร้อยละ 74.67 โดยเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 25.33 และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ถึง 782.22 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะกรรมวิธีควบคุม เกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 43.33 เก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียง 382.22 กิโลกรัม/ไร่

รหัสโครงการ..0 1 1 5 4 9 0 3

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*, Gagnep) เป็นไม้พื้นบ้านของไทย อยู่ในกลุ่มพืชสกุลกระเจียวเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกับขิง ข่า มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบอีสานของประเทศไทย(วิภาดาและนิพัฒน์, 2537) ปัจจุบันนำมาใช้เป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และไม้ประดับแปลง (วิภาดาและนิพัฒน์, 2537) เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ โดยเริ่มมีการส่งออกเหง้าหรือหัวพันธุ์ ปทุมมา ในปี พ.ศ. 2528 (สุรวิช, 2539) ตลาดการส่งออกปทุมมาที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น อเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (สุรวิช, 2537) ปัจจุบันการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยว(bacterial wilt) หรือโรคหัวเน่า (brown rot) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (สุเนตราและคณะ, 2538; ณัฏฐิมาและคณะ, 2541) เชื้อแบคทีเรียนี้เข้าทำลายพืชได้ทุกระยะพบมากในช่วงที่พืชกำลังออกดอก ทำให้ต้นพืชเกิดอาการใบม้วน และมีสีซีดเหมือนขาดน้ำต่อไปใบเริ่มเหลืองและหักพับ ลำต้นเน่าและลุกลามไปยังส่วนหัวจึงทำให้เกิดอาการหัวเน่าขึ้น เชื้อนี้สามารถติดไปกับส่วนขยายพันธุ์ สามารถแอบแฝงอยู่ในหัวพันธุ์(Latent infection) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะแสดงอาการของโรคออกมาทำให้เกิดการระบาดของโรค

แบคทีเรีย *R. solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยวที่ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิดตั้งแต่พืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ *Solanaceae* (Hayward, 1964) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่แบคทีเรียเข้าทำลายสภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรีย ในประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูงและเป็นที่ยอมรับอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้อง และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรีย จนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลายเช่น รา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นต้น แบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ มีอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย และเจริญได้รวดเร็วที่บริเวณรากพืช นอกจากนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* ยังมีความสามารถในการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) (Baker and Cook, 1974) มีรายงานการใช้แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่

Celino and Gotllieb (1952) ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* B_3 A ใส่ลงในดินที่มีแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจากร้อยละ 70 เหลือเพียงร้อยละ 33 Aspiras and de la Cruz (1985) ได้รายงานการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* FU 6 และ *Pseudomonas fluorescens* ที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและ มันฝรั่ง เนื่องจากแบคทีเรียนี้สามารถเจริญที่บริเวณรากของต้นกล้าได้ดีและสามารถป้องกันการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ Karuna *et al.* (1997) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่ใช้ในการป้องกันกำจัดแบบชีววิธี ได้แก่ *P. fluorescens* , *P. aeroginosa* และ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าแบคทีเรีย *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* เมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลองพบว่า สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของต้นมะเขือเทศที่เจริญเติบโตในดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดี Sanaina *et al.* (1997) ศึกษาแบคทีเรียจากบริเวณรากของต้นมันฝรั่งโดยแยกแบคทีเรียจากรากของต้นปกติและรากของต้นที่เป็นโรค นำมาคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus cereus, B. subtilis* และ *Enterobacter cloaceae* ที่แยกได้จากรากมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยทำการศึกษากับดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* 3 แห่งของประเทศอินเดีย คือ เมือง Bhowali Palampur และ Bhubaneswar สามารถลดการเกิดโรคได้ร้อยละ 66-83, 27-70 และ 24-71 ตามลำดับ และพบว่าที่เมือง Bhowali และ Bhubaneswar มีผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง ร้อยละ 160 Guo *et al.* (2002) รายงานการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี โดยใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่แบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* สายพันธุ์ J3 และ แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* สายพันธุ์ BB11 และ FH17 ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตให้ต้นพริก (Plant Growth Promoting Rhizosphere Bacteria) สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ ร้อยละ30 ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลงร้อยละ 54 และ 65 ตามลำดับ และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 80-100 ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลงร้อยละ 34 ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 50 แต่เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลงร้อยละ 75 และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 200

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อคัดเลือกหาแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในระดับห้องปฏิบัติการ เรือนปลูกพืชทดลอง และแปลงเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ปทุมมา

วิธีการ

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

การเก็บตัวอย่างรากพืช ดิน และปุ๋ยคอก

สำรวจและเก็บตัวอย่างรากพืช ดินและปุ๋ยคอก ในแหล่งปลูกพืช จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง กาญจนบุรี ปทุมธานี นนทบุรี ชุมพร และนครปฐม โดยเก็บตัวอย่างพืชที่ไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวในแปลงปลูกพืชที่มีโรคเหี่ยวระบาดได้แก่ ยาสูบ ปทุมมา มันฝรั่ง ขิง และ อ้อย จำนวน 20 ตัวอย่างและเก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืช โดยเก็บดินบริเวณรอบราก ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค จำนวน 20 ตัวอย่าง พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างปุ๋ยคอกจากแปลงปลูกพืช จำนวน 10 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง

การแยกแบคทีเรียจากดินและปุ๋ยคอก นำตัวอย่างดินและปุ๋ยคอกที่เก็บมาได้ ผึ่งลมให้แห้งพอหมาด ๆ นำมาแยกแบคทีเรียตามวิธี soil plate method โดยชั่งดินหรือปุ๋ยคอก จำนวน 25 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ (serial dilution) จากนั้นนำสารละลายดินหรือปุ๋ย 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-4} 10^{-6} และ 10^{-8} มากระจายบนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญเติบโต คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีตามวิธีการของ Holt *et al.*(1994)

การแยกแบคทีเรียจากรากพืช นำตัวอย่างรากพืชที่เก็บมาได้ล้างดินบริเวณรากพืชออกหมดทั้งในต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค จากนั้นชั่งตัวอย่างรากพืช จำนวน 1 กรัม นำมาบดในโกร่งนึ่งฆ่าเชื้อให้ละเอียด เติมด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ไว้นาน 20 นาที ทำให้เจือจางโดยวิธี serial dilution จากนั้นนำตัวอย่างรากพืช 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-4} 10^{-6} และ 10^{-8} ไปกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ KB และ NGA ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่

เจริญเติบโต คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี ตามวิธีการของ Holt *et al.*(1994)

2. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมแบคทีเรีย *R. solanacearum* นำแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวที่แยกได้จากปทุมมา จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ RS no.19, RS no.24, RS no.36 และ RS no.37 จาก จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และเพชรบูรณ์ มาเลี้ยงบนอาหารเอียง Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) ในหลอดทดลอง บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง แล้วนำมาทำสารละลายแบคทีเรียโดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำมาทำ double layer ลงบนอาหาร PSA โดยนำหลอดอาหาร PSA ปริมาตร 7 มิลลิลิตร หลอมที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เติมด้วยสารละลายแบคทีเรีย 0.25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อมีอาหาร PSA เทอยู่แล้วปริมาตร 15 มิลลิลิตร เอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

การเตรียมแบคทีเรีย *B. subtilis* นำแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่แยกได้จากพืช ดิน และปุ๋ยคอก มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่าความดูดกลืนแสง (optical density) 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวที่แยกได้จากปทุมมา จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ RS no.19, RS no.24, RS no.36 และ RS no.37 ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยวิธี disc diffusion method ใช้ micropipette หยดสารละลายของแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เตรียมไว้แล้วแต่ละไอโซเลท 10 ไมโครลิตรลงบนกระดาษแผ่นกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษวางบนผิวหน้าอาหารที่เลี้ยงแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เตรียมไว้ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของแบคทีเรียถึงขอบบริเวณใส

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

การเตรียมดินปลูกปทุมมาที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* เตรียมสารละลายแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดย นำแบคทีเรีย *R. solanacearum* No. 19 มาเลี้ยงบนอาหาร PSA บ่ม

เชื้อไว้ 48 ชั่วโมง เติมด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัด ค่าความดูดกลืนแสง ให้มีค่า 0.2 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายแบคทีเรียไปผสมกับดินที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ในปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อดิน 8 กิโลกรัม ผสมคลุกให้เข้ากัน ตรวจหาปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยวิธี soil dilution plates นำดินที่ผสมเชื้อแล้วใส่กระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว จำนวน 0.8 กิโลกรัมต่อกระถาง จำนวน 90 กระถาง

การเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์ นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ มาเลี้ยงบนอาหาร PSA โดยเตรียมไอโซเลทละ 4 คู่ บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง นำมาทำสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยเติมด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่าความดูดกลืนแสง 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพเรือนทดลอง โดย วางแผนการทดลองแบบ complete randomize design (CRD) มี 9 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24
กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 69
กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 97
กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108
กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 114
กรรมวิธีที่ 6 แบคทีเรียปฏิปักษ์.BS-DOA 123
กรรมวิธีที่ 7 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 125
กรรมวิธีที่ 8 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 132
กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์ปทุมมาแช่ในสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ นาน 30 นาที ผึ่งให้แห้งก่อนปลูกในดินที่มีแบคทีเรีย R. solanacearum ที่เตรียมไว้ กรรมวิธีละ 10 กระถางๆละ 1 หัว ราดแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธี ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้นทุกๆ 7 วัน

การบันทึกผล บันทึกต้นปทุมมาที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวทุก 15 30 และ 45 วัน และตรวจนับปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์และ แบคทีเรีย R. solanacearum ทุก 15 30 และ 45 วัน

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง

การเตรียมแปลงทดลอง เตรียมแปลงทดลองที่ ศูนย์วิจัยเชียงราย โดยทำการอบดินด้วยยูเรีย: ปูนขาว ในอัตรา 80 ต่อ 800 กิโลกรัม/ไร่ เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจจะปนเปื้อนอยู่ในดิน หลังจากอบดิน 3 สัปดาห์ ทำการเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่ำเสมอ โดยปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวลงในแปลงทดสอบ เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 21 วัน ปลูกด้วยแบคทีเรีย *R. solanacearum* No. 19 ความเข้มข้น 10^8 หน่วย

โคโลนี/มิลลิลิตร ลงบนต้นมะเขือเทศ โดยวิธี clipping method ทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน ต้นมะเขือเทศแสดงอาการของโรคเหี่ยว ทำการสับต้นมะเขือเทศให้ละเอียดและปล่อยให้ย่อยสลายในแปลงทดสอบ จากนั้นเตรียมแปลงทดลองขนาด 8.0 x 1.5 เมตร จำนวน 25 แปลง เพื่อทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลองต่อไป

การเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์ นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในโรงเรือนทดลอง มาเลี้ยงบนอาหาร PSA โดยเตรียมไอโซเลทละ 20 คู่ บ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง นำมาทำสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยเติมด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่าความดูดกลืนแสง 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แบคทีเรียมีความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) มี 5 กรรมวิธีๆละ 5 ซ้ำ ดังรายเอียดกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108
กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 114
กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 123
กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 125
กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์ปทุมมาแช่ในสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ นาน 30 นาที ผึ่งให้แห้ง ก่อนปลูกในแปลงทดลองตามแผนการทดลอง โดยใช้หัวพันธุ์ปทุมมา จำนวน 30 หัวต่อแปลง หลังปลูกปทุมมา รดแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งแปลง ทำการรดแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 30 วัน จำนวน 4 ครั้ง เป็นเวลา 4 เดือน

การบันทึกผล บันทึกจำนวนต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวและตาย ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์และ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแต่ละกรรมวิธี เดือนละครั้ง เป็นเวลา 4 เดือน

5. ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงเกษตรกร

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลอง มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงเกษตรกร ที่ จ.เชียงราย โดยเลือกแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียอย่างรุนแรง

ตรวจหาปริมาณของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนการทดลอง โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุด นำมารวมกัน ชั่ง 10 กรัมผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มล.เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี serials dilution ใช้ 100 ไมโครลิตร ของแต่ละ dilution เกลี่ยลงบนอาหารSM 1 ให้ทั่ว บ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับปริมาณบนอาหาร

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 มาเลี้ยงในอาหารเหลว NGB เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้ได้ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพแปลงเกษตรกร ทำการปลูกปทุมมาโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังรายละเอียดกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108

กรรมวิธีที่ 2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 114

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 อัตรา 1:1

กรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีควบคุมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์ปทุมมาแช่ในสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ นาน 30 นาที ผึ่งให้แห้ง นำไปปลูกในแปลงทดลองตามแผนการทดลอง โดยใช้หัวพันธุ์ปทุมมา จำนวน 20 หัวต่อแปลง หลังปลูกปทุมมางรดแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีให้ทั่วทั้งแปลง ทำการรดแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 30 วัน

การบันทึกผล บันทึกจำนวนต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวและตาย ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์และ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแต่ละกรรมวิธี เดือนละครั้ง และบันทึกน้ำหนักและปริมาณของผลผลิตที่ได้

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.53 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร และ แปลงเกษตรกร จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

ผลการแยกแบคทีเรียจาก ดิน รากพืช และปุ๋ยคอก จำนวน 50 ตัวอย่าง ได้แบคทีเรียทั้งหมด 345 ไอโซเลท นำมาคัดเลือกหาแบคทีเรีย *B. subtilis* ตามวิธีการของ Holt *et.al.*(1994) โดยคัดเลือกแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นแกรมบวก ต้องใช้อากาศในการดำรงชีวิต (aerobic bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rod shape) มีหางรอบตัว (peritrichous flagella) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospores) เป็นรูปไข่ (oval shape) มีจำนวนสปอร์เพียงสปอร์เดียว สร้างเอนไซม์ catalase สามารถคัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้จำนวน 135 ไอโซเลท โดยการแยกจากดินรากยาสูบ ปทุมมา มันฝรั่ง ขิงและ อ้อย จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง กาญจนบุรี ชุมพร และ นครปฐม 90 ไอโซเลท แยกจากปุ๋ยคอกและดินในแปลงผัก จังหวัด นนทบุรี และปทุมธานี ได้ 15 ไอโซเลท และ แยกได้จากรากยาสูบ และปทุมมา จังหวัด เชียงใหม่ และเชียงราย จำนวน 30 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

2. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

คัดเลือกได้แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ 8 ไอโซเลท ได้แก่ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24, BS-DOA 69, BS-DOA 97, BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 BS-DOA 125 และ BS-DOA 132 (ตารางที่ 2) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทั้ง 4 ไอโซเลทได้โดยมีระดับการยับยั้งที่แตกต่างกัน มีความกว้างของบริเวณใส ตั้งแต่ 0.7 -6.1 มิลลิเมตร แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24, BS-DOA 97, BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทั้ง 4 ไอโซเลท ได้มากที่สุด โดยมีความกว้างของบริเวณใส 1.9 -6.1 มิลลิเมตร (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 6 ไอโซเลท มีการผลิตสารปฏิชีวนะออกมาจำนวนมากทำให้เกิดปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ซึ่งตรงกับที่ Baker และ Cook (1974) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* มีความสามารถในการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

ผลการทดลองพบว่าต้นปทุมมาที่รดด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุด โดยมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวร้อยละ 60 ส่วนต้นปทุมมาที่รดด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24, BS-DOA 69, BS-DOA 97 และ BS-DOA 132 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมารองลงมา คือ ร้อยละ 40 ในขณะที่ต้นปทุมมาที่เป็นตัวเปรียบเทียบที่รดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแสดงอาการของโรคเหี่ยวร้อยละ 80 (ตารางที่ 4)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์และแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าสอดคล้องกับผลทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดย ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกรรมวิธีที่ใช้ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวมากที่สุดมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยมีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ 1.75×10^5, 6.6×10^5, 1.25×10^5 และ 1.5×10^5 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ(ตารางที่ 5) ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในกรรมวิธีที่ใช้ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 ลดลง โดยมีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* 5.6×10^3, 1.16×10^3, 9.6×10^3 และ 2.75×10^3หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ส่วนกรรมวิธีอื่นๆมีปริมาณของแบคทีเรียปฏิปักษ์ คงที่และลดลง ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 6) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 สามารถอยู่ในดินปลูกปทุมมาได้นานคงทนกว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์อื่นๆทำให้ปริมาณเพิ่มมากขึ้น และจากผลการทดลองการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ แบคทีเรีย

ปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 มีการสร้างความกว้างของบริเวณใสปฏิกิริยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* มากที่สุดแสดงว่ามีการผลิตสารปฏิชีวนะออกมาจำนวนมาก จึงทำให้แบคทีเรีย BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมามากกว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์อื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับที่ Baker และ Cook (1974) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สร้างสปอร์ที่เรียกว่าเอ็นโดสปอร์ (endospore) ซึ่งมีความทนทาน และอยู่รอดสูงแม้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ขาดแคลนอาหาร ความร้อนสูง แสงอุลตร้าไวโอเลต และสามารถงอกกลับเป็นเซลแบคทีเรียใหม่ได้โดยง่ายและมีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อโรคได้ทันทีใส่ลงไปในดินเนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมและสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง

โดยการนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในโรงเรือนทดลอง มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุม ผลการทดสอบพบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการควบคุมโรคแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่7) โดยมีการเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 56.67 และ 58.67 ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวร้อยละ 43.33 และ 41.33 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 78 ส่วนแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 เกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 62.67 และ 64 ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเพียงร้อยละ 37.33 และ 36 ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

5. ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงเกษตรกร

การทดสอบในแปลงของเกษตรกรผู้ปลูกปทุมมา อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย โดยการเลือกแปลงปลูกปทุมมาที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทำการตรวจหาปริมาณของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนการทดลอง พบปริมาณแบคทีเรีย*R. solacearum* 1.6×10^5 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณที่มากเพียงพอที่จะทำให้เกิดโรคเหี่ยวในแปลงปลูกได้ ทำการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงเกษตรกร โดยทำการทดสอบเป็นเวลา 2 ปี (2551 และ 2552) การทดสอบใช้แปลงเดิมทั้งสองปี จากผลการทดสอบทั้ง 2 ปีพบว่า การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีทีสุด โดยในปี 2551 ผลการทดสอบพบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อนำมาวิเคราะห์พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่า การใช้แบคทีเรีย

ปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมโรคได้ร้อยละ 48.67 โดยพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 51.33 ส่วนการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 เพียงอย่างเดียว สามารถควบคุมโรคได้ร้อยละ 42 และ 40.67 ตามลำดับ พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 58 และ 59.33 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม เกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 62.67 (ตารางที่ 8) สำหรับน้ำหนักของผลผลิตที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีเมื่อนำมาวิเคราะห์พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 ได้น้ำหนักผลผลิตมากที่สุดคือ 506.67 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมได้น้ำหนักผลผลิตเพียง 1,042.22 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108และ BS-DOA 114 เพียงอย่างเดียว ได้ผลผลิตน้ำหนัก 222.24 และ 142.25 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ(ตารางที่8)

ในปี 2552 ผลการทดสอบพบว่า. BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการควบคุมโรคแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวร้อยละ 74.67 มีการเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 25.33 ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 43.33 ส่วนการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108และ BS-DOA 114 เพียงอย่างเดียว มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเพียงร้อยละ 68 และ 66 ตามลำดับ และเกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 32 และ 34 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) สำหรับน้ำหนักของผลผลิตที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 ได้น้ำหนักผลผลิตมากที่สุดคือ 782.22 กิโลกรัม/ไร่ มีความแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีควบคุมได้น้ำหนักผลผลิตเพียง 382.22 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะที่ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108และ BS-DOA 114 เพียงอย่างเดียว ได้ผลผลิตน้ำหนัก 657.78และ 595.55 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ(ตารางที่ 9)

จากผลการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *B. subtilis* BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ทั้ง 2 ปี (2550-2551) พบว่า การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* BS-DOA 108ร่วมกับ BS-DOA 114 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวของปทุมมาสูงสุด โดยมีประสิทธิภาพมากกว่าใช้เพียงตัวเดียว ในปีแรก สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ร้อยละ 48.67 และในปีที่สองควบคุมโรคได้ร้อยละ 74.67 จากการทดลองจะเห็นได้ว่าในปีที่1 มีการระบาดของโรครุนแรงมาก เนื่องมาจากหัวพันธุ์ปทุมมาที่นำมาใช้ปลูกในปีที่ 1 พบปัญหาหัวพันธุ์มีแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว ติดมาด้วย ซึ่งก่อนการปลูกได้คัดเฉพาะหัวที่สะอาดและไม่มีอาการของโรค แต่จากการทดลองพบว่า หัวพันธุ์ยังคงมีโรคแฝงอยู่ จึงทำให้เกิดการระบาดรุนแรง ในปีที่ 2 จึงได้คัดหัวพันธุ์ปทุมมา โดยการสุ่มตรวจหาแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก คัดเฉพาะหัวพันธุ์ที่ไม่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* มาทำการทดลอง ทำให้ลดปัญหาหัวพันธุ์ติดโรคในปีที่ 2 การระบาดของโรคจึงลดความรุนแรงลง นอกจากนี้พบว่าในการทดลองปีที่สองซึ่งเป็นการทดลองในแปลงเดิมนั้น เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเพิ่มมากขึ้นเนื่องจาก ประชากรของแบคทีเรีย *B. subtilis* BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ที่อยู่ในแปลงเพิ่มขึ้น อาจจะเกิดจากการสะสมของแบคทีเรีย *B.subtilis* BS-DOA 108 และ BS-DOA

114 ที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ความสามารถในการควบคุมโรคเพิ่มมากขึ้น ซึ่งแบคทีเรีย *B. subtilis* BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 มีความคงทนและสามารถอยู่ในได้นาน ซึ่งสอดคล้องกับที่ Baker และ Cook (1974) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สร้างสปอร์ที่เรียกว่าเอ็นโดสปอร์ (endospore) ซึ่งมีความทนทาน และอยู่รอดสูงแม้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ขาดแคลนอาหาร ความร้อนสูง แสงอุลตร้าไวโอเลต และสามารถงอกกลับเป็นเซลแบคทีเรียใหม่ได้โดยง่ายและมีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อโรคได้ทันทีใส่ลงไปในดินเนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมและสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

จากการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* สามารถคัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* BS-DOA 108และ BS-DOA 114 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาทั้งในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง ในสภาพแปลงทดลองและแปลงเกษตรกร โดยการใช้แบคทีเรียแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้งสองชนิดร่วมกันจะให้ประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรได้ร้อยละ 48.67–74.67 และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ถึง 506.67–782.22 กิโลกรัม/ไร่ ขณะที่หากไม่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียง 142.22-382.22 กิโลกรัม/ไร่ จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sanaina *et al.* (1997) ที่คัดเลือกแบคทีเรีย *B. cereus, B. subtilis* จากบริเวณรากของต้นมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดย สามารถลดการเกิดโรคได้ ถึง 83% และพบว่าผลผลิตเพิ่มขึ้น 160% เช่นเดียวกับ Guo *et al.* (2002) ได้รายงานการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี ด้วยใช้เชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. (J3) และ เชื้อ *Bacillus* spp (BB11 และ FH17) ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตให้ต้นพริก (Plant Growth Promoting Rhizophere bacteria) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในดินทีสามารถทำให้เกิดโรคกับพริกได้ 30% ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยเชื้อปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100% เชื้อปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 % ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50% เมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200%

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การคัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในห้องปฏิบัติการ คัดเลือกได้จำนวน 8 ไอโซเลท คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 24, BS-DOA 69, BS-DOA 97, BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 BS-DOA 125และ BS-DOA 132

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพโรงเรือนปลูกพืช คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 4 ไอโซเลท คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108, BS-DOA 114, BS-DOA 123 และ BS-DOA 125 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ร้อยละ 60

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลองได้ 2 ไอโซเลท คือแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ร้อยละ 43.33 และ 41.33 ตามลำดับ

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงเกษตรกร เป็นเวลา 2 ปี (2550-2551) พบว่า การใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* BS-DOA 108ร่วมกับ BS-DOA 114 ในอัตรา 1:1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวของปทุมมาสูงสุด โดยในปีแรก สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ร้อยละ 48.67 และในปีที่สองควบคุมโรคได้ร้อยละ 74.67

5. การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของปทุมมาโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สามารถคัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* BS-DOA 108และ BS-DOA 114 ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาทั้งในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง ในสภาพแปลงทดลอง และแปลงเกษตรกร โดยใช้แบคทีเรียแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้งสองชนิดร่วมกันจะให้ประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรได้ร้อยละ 48.67–74.67 และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ถึง 506.67–782.22 กิโลกรัม/ไร่ ขณะที่หากไม่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียง 142.22-382.22 กิโลกรัม/ไร่

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน. 2541. ศึกษาเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา. รายงานผลงานวิจัย ปี 2541. กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 24-35.

วิภาดา ทองทักษิณ และ นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2537. ปทุมมา. กสิกร. 67(5):415-419.

สุเนตรา ภาวิจิตร , ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ และนิยมรัฐ ไตรศรี. 2538. โรคหัวเน่าของกระเจียวและปทุมมา ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 5(4) : 92

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2537 ปทุมมาและกระเจียว. น.58-72. ใน : ไม้ตัดดอกเขตร้อน. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.159 น.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2539. ปทุมมาและกระเจียว (Curcuma) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด,กรุงเทพฯ.128 น.

Aspiras, R.B. and A.R. de la Cruz. 1985. Potential biological control of bacterial wilt in tomato and potato with *Bacillus polymyxa* FU6 And *Pseudomonas fluorescens*, pp. 89-92. *In* G.J. Persley. Bacterial wilt Disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Bannos, Philippines

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Soil-Borne Pathogens. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 433 p.

Celino, M.S. and D. Gotllieb. 1952. Control of bacterial wilt of tomato by *Bacillus polymyxa*. Phytopathology. 42:4(Abstract).

Guo,J., H. Qi and S. Li . 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to Pepper bacterail wilt. Bacterial wilt newsletter. 17 :3 .

Hayward, A.C. 1964. Characteristics of Pseudomonas solanacearum. J. App. Bacteriol. 27:265-277.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltomore.

Karuna , K., A.N.A. Khan and M. R. Ravikumar. 1997. Potential of biocontrol agent in the management of bacterial wilt of Tomato caused by *Ralstonia solanacearum.* Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Xu, G.W. and D.C. Gross.1986. Field evaluation of the interaction among fluorescent Pseudomonas, Erwinia calotovora and potato yield. Phytophathology 76 : 423-430.

Sanaina, V., V. Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bactria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลทต่างๆที่แยกได้จาก ดิน ปุ๋ย และ รากพืช

สถานที่	แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลท	No. ไอโซเลท
กาญจนบุรี เชียงใหม่และเชียงราย	ดินรากยาสูบ	25	BS-DOA 1-25
เชียงใหม่และเชียงราย	รากยาสูบ	15	BS-DOA 25-40
ลำพูน เชียงใหม่ และเชียงราย	ดินรากปทุมมา	20	BS-DOA 41-60
เชียงใหม่และเชียงราย	รากปทุมมา	15	BS-DOA 61-75
เชียงใหม่	ดินรากมันฝรั่ง	20	BS-DOA 76-95
ชุมพรและเชียงราย	ดินรากขิง	15	BS-DOA 96-110
นครปฐม กาญจนบุรีและลำปาง	ดินรากอ้อย	10	BS-DOA 111-120
ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงผัก	5	BS-DOA 121-125
นนทบุรีและปทุมธานี	ปุ๋ยคอก(มูลโคและมูลไก่)	10	BS-DOA 126-135
	รวม	**135**	

ตารางที่ 2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา

No. ไอโซเลท	สถานที่	แหล่งที่มา
1. BS-DOA 24	จ. กาญจนบุรี	ดินรากยาสูบ (no.4)
2. BS-DOA 69	จ. เชียงราย	ดินรากปทุมมา (no.3A)
3. BS-DOA 97	จ. ชุมพร	ดินบริเวณรากขิง (ดินชุมพร no.1)
4. BS-DOA 108	จ. เชียงราย	ดินรากขิง (no.4415)
5. BS-DOA 114	จ. นครปฐม	ดินรากอ้อย (no.6)
6. BS-DOA 123	จ. ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงผัก (ดินเลน no.1)
7. BS-DOA 125	จ. ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงผัก (คลองหลวงno.9)
8. BS-DOA 132	จ.ปทุมธานี	ปุ๋ยคอก (no.1)(มูลโค)

ตารางที่ 3 ขนาดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PSA

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ความกว้างของบริเวณใส (มม.)			
	RS no.37	RS no.36	RS no.24	RS no.19
1. BS-DOA 24	5.2	4.65	2.3	2.75
2. BS-DOA 69	3.1	-	4.35	-
3.BS-DOA 97	5.05	3.1	4.2	3.1
4. BS-DOA 108	4.3	5.6	2.5	2.6
5. BS-DOA 114	5.45	2.15	3.45	3.5
6. BS-DOA 123	2.35	4.85	3.1	3.35
7. BS-DOA 125	6.1	1.9	4.8	3.6
8. BS-DOA 132	0.7	5.2	3.75	-

หมายเหตุ - = ไม่เกิด Clear zone

ตารางที่ 4 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%)	การควบคุมโรค (%)
1. BS-DOA 24	60[1/]	40[2/]
2. BS-DOA 69	60	40
3.BS-DOA 97	60	40
4. BS-DOA 108	40	60
5. BS-DOA 114	40	60
6. BS-DOA 123	40	60
7. BS-DOA 125	40	60
8. BS-DOA 132	60	40
9. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	80	-

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลองเป็นเวลา 15, 30 และ 45 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. BS-DOA 24	7.2×10^4	7.45×10^4	6.75×10^3
2. BS-DOA 69	4.5×10^4	$3.4x\ 10^4$	9.2×10^4
3.BS-DOA 97	1.53×10^4	1.25×10^4	9.3×10^4
4. BS-DOA 108	2.97×10^4	2.6×10^4	1.75×10^5
5. BS-DOA 114	6.4×10^4	4.4×10^4	6.6×10^5
6. BS-DOA 123	4.5×10^4	1.75×10^4	1.25×10^4
7. BS-DOA 125	9.9×10^4	$2.1x\ 10^5$	1.5×10^5
8. BS-DOA 132	6.84×10^5	7.4×10^4	2.7×10^3

* CFU = หน่วยโคโลนี

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในเรือนทดลองเป็นเวลา 15, 30 และ 45 วัน 45 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. BS-DOA 24	7.65×10^4	9.0×10^5	6.7×10^6
2. BS-DOA 69	2.79×10^5	2.835×10^5	7.8×10^6
3.BS-DOA 97	1.26×10^5	6.75×10^4	9.9×10^6
4. BS-DOA 108	1.25×10^4	1.485×10^4	5.6×10^3
5. BS-DOA 114	1.35×10^5	9.0×10^4	1.16×10^3
6. BS-DOA 123	1.53×10^5	1.935×10^4	9.6×10^3
7. BS-DOA 125	1.48×10^4	2.7×10^3	2.75×10^3
8. BS-DOA 132	1.035×10^5	2.5×10^6	1.05×10^6

* CFU = หน่วยโคโลนี

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%)	การควบคุมโรค (%)
1. แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 125	64.00ab[1/]	36.00ab
2. แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 123	62.67ab	37.33ab
3. แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 114	58.67b	41.33a
4.แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108	56.67b	43.33a
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	78.00a	22.00b
CV.	**20.7%**	**36.2%**

1/ ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพแปลงเกษตรกร ฤดูปลูกปี 2551

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%)	การควบคุมโรค (%)	ผลผลิต (กก./ไร่)
1. BS-DOA 108	58.00	42.00	222.24
2. BS-DOA 114	59.33	40.69	142.25
3. BS-DOA 108+ BS-DOA114	51.33	48.67	506.67
4. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	62.67	37.33	142.22
CV.	**35%**	**48%**	**103.3%**

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพแปลงเกษตรกร ฤดูปลูกปี 2552

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%)	การควบคุมโรค (%)	ผลผลิต (กก./ไร่)
1. BS-DOA 108	32.00 ab[1/]	68.00 ab	657.78 ab
2. BS-DOA 114	34.00 ab	66.00 ab	595.55 b
3. BS-DOA 108+ BS-DOA114	25.33 b	74.67 a	782.22 a
4. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	43.33 a	56.67 b	382.22 c
CV.	**27.3%**	**13.9%**	**21%**

1/ ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%