การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้และใบจุดปทุมมาที่เกิดจากเชื้อรา *Acremonium* sp. โดยชีววิธี

Biological Control of Leaf Blight Disease in Curcuma caused by *Acremonium* sp.

ทัศนาพร ทัศคร วัชรี วิทยวรรณกุล บังอร นวลศรี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 79 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค *Acremonium* sp. ในห้องปฏิบัติการ สามารถคัดเลือกได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค จำนวน 19 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้มีการสร้าง inhibition zone ได้กว้าง 1.0 - 2.0 เซนติเมตร จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบไหม้และใบจุดในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท ลงบนพืชทดสอบจำนวน 4 ครั้ง ทุก 5 วัน และทำการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบก่อนการพ่นเชื้อทุกครั้ง จากการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเกิดแผลบนใบปทุมมา 3 พันธุ์ คือ ขาวมะลิ ทวิตเตอร์ และ มองบลังค์ และกระเจียว 1 พันธุ์ คือ ลัดดาวัลย์ ได้ดีในสภาพโรงเรือน ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ Bc-48, Bc-39, Bc-52, Bc-02, Bc-78, Bc-60และ Bc-12 จากการทดลองครั้งนี้จะได้นำผลการทดลองที่ได้ไปทำการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองต่อไป

คำหลัก : โรคใบจุด โรคใบไหม้ ปทุมมา กระเจียว, *Acremonium* sp. การป้องกันกำจัดโรคโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง 01-22-59-01-02-00-01-59

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*, Gagnep) เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับขิงและข่า แต่ปทุมมาอยู่ในสกุลย่อยที่มีชื่อว่า Paracurcuma มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศอินโดจีนเช่น ไทย พม่า ลาวและเขมร เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินแบบเหง้า มีการเจริญเติบโตทางลำต้นและให้ดอกในช่วงฤดูฝน จากนั้นจะทิ้งใบจนหมดแล้วพักตัวอยู่ในดินตลอดช่วงฤดูหนาว เมื่อถึงฤดูฝนก็จะเจริญเติบโตออกดอกอีกครั้ง ดอกปทุมมาและกระเจียวมีรูปทรงและสีสันสวยงาม จึงได้มีการส่งเสริมให้เป็นไม้ตัดดอกไม้กระถางและไม้ประดับแปลง (วิภาดาและนิพัฒน์, 2537) และเก็บหัวพันธุ์เพื่อส่งไปขายยังต่างประเทศ แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือของประเทศไทย แต่เนื่องจากปทุมมาและกระเจียวกลายเป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมและกลายเป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญ มีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี จึงมีการขยายแหล่งปลูกไปยังภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางเพิ่มขึ้น ปัญหาสำคัญของการผลิตปทุมมาเพื่อการค้าและส่งออกนอกจากโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียแล้วยังพบโรคที่มีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นทุกปีได้แก่ โรคใบไหม้และโรคใบจุดของปทุมมาเนื่องจากพบโรคทั้ง 2 ชนิดระบาดรุนแรงมากขึ้นในแหล่งปลูกภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่และจังหวัดลำพูน มีรายงานว่า โรคใบจุดของปทุมมามีสาเหตุเกิดจากรา 3 สกุล คือ *Acremonium* sp. *Phoma* sp. และ *Cercospora* sp. (นิยมรัฐ, 2544)

ธารทิพย และคณะ (2554) ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคของพืชกลุ่มปทุมมา กระเจียว ในปี 2554 – 2555 พบว่า โรคใบไหม้และใบจุดเป็นปัญหาโรคพืชที่พบมีการระบาดทุกแหล่งปลูก และยังไม่ทราบสาเหตุโรคที่ชัดเจน และจากการเก็บตัวอย่างโรคใบไหม้และใบจุดของพืชกลุ่มปทุมมาและกระเจียว เช่น ปทุมมาพันธุ์ สโนไวท์ เชียงใหม่ชมพู ทับทิมสยาม และกระเจียว พันธุ์ ลัดดาวัลย์ จากแหล่งปลูกจังหวัด นครปฐม กาญจนบุรี และเชียงราย มาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ ใบจุด สามารถแยกได้เชื้อรา *Acremonium sp.* และนำเชื้อรา *Acremonium* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท ที่แยกได้ไปทดสอบการเกิดโรคพบว่า สามารถทำให้เกิดลักษณะอาการโรคใบไหม้ใบจุดในกระเจียวและปทุมมาได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ อีกทั้งการใช้สารเคมีทำให้ต้นทุนการผลิตสูง และเกิดการตกค้างของสารเคมีในพืช สภาพแวดล้อม เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี การเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีได้ และสามารถนำไปสู่การจัดการโรคแบบผสมผสานต่อไป

Mahadtanapuk *et al.* (2007) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย 400 ไอโซเลท ที่แยกได้จากผิวของดอกปทุมมา และบ่อน้ำพุร้อนในจังหวัดเชียงใหม่ นำมาศึกษาความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนส *Colletotrichum musae* พบแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคได้ 75% ได้แก่ *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* และ *B. subtilis* จากการศึกษาการยับยั้งเชื้อราในต้นปทุมมา พบว่า *B. amyloliquefaciens* และ*B. subtilis* ยับยั้ง *C. musae* ได้ดีกว่า *B. licheniformis* และเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อราก่อโรคได้ 100% และพบว่าสารยับยั้งเชื้อราจาก

B.amyloliquefaciens และ *B. subtilis* เป็นสารกลุ่ม iturin A และสามารถนำ *B. amyloliquefaciens* ไปใช้ป้องกันดอกปทุมมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
3. อุปกรณ์เครื่องมือ และเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างหัวพันธุ์ปทุมมา ต้น ดอก ใบ ปทุมมา กระเจียวพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งปลูกที่สำคัญ เพื่อนำมาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยวิธี leaf washing technique และเก็บตัวอย่างดินมาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยวิธี Soil dilution plate เมื่อพบมีโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์เจริญ ให้เลือกเก็บโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญขึ้นบนผิวหน้าอาหาร บันทึกลักษณะของเชื้อ และแยกเชื้อเก็บไว้ให้บริสุทธิ์ เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Acremonium* sp. ในห้องปฏิบัติการต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *Acremonium* sp. ในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Acremonium* sp. ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Dual Culture technique โดย เลี้ยงเชื้อรา *Acremonium* sp. บนอาหาร PDA นาน 7 วัน ใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม เจาะเส้นใย *Acremonium* sp. ย้ายไปวางบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากข้อที่1 ที่เลี้ยงในอาหาร NGA .ที่ 28 °C อายุ 24-48 ชั่วโมง มาขีดเป็นเส้นตรงยาว 3 ซ.ม. ขนาดกับโคโลนีของเชื้อราทั้ง 4 ด้านให้มีระยะห่างจากโคโลนีเชื้อรา 2 ซ.ม. บันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพโดยวัดจากความกว้างของ inhibition zone และขนาดของโคโลนีเชื้อรา *Acremonium* sp. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยไว้ เพื่อการทดสอบขั้นตอนต่อไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบไหม้และใบจุด ในสภาพโรงเรือนทดลอง

1. ปลูกปทุมมา หรือกระเจียว จำนวน 4 พันธุ์ กระถางละ 2 ต้น จำนวน 10 กระถาง เพื่อใช้ในการทดลองในสภาพโรงเรือนทดลอง

2. เลี้ยงขยายเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลองกรรมวิธีๆ คือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2 จำนวน 10 ไอโซเลท

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-02
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-12
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท, Bc-30
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-39
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-48
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-51
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-52
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-60
กรรมวิธีที่ 9 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-67
กรรมวิธีที่ 10 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-78
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม)

3. ทำการทดสอบเมื่อต้นปทุมมา มีใบ 3 - 5 ใบ ทำการปลูกเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบจุด ใบไหม้ ด้วยวิธี toothpick's technique ที่บริเวณใบ นำกระถางที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วใส่ลงในถุงพลาสติกใสเพื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในอาหาร NGB ปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้น 10^8 cfu/ml โดยการวัดค่า OD ให้ได้ 0.2 และนำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ไปพ่นให้ทั่วต้นปทุมมา หรือกระเจียว และพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ซ้ำทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลการทดสอบโดยตรวจการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบปทุมมา หรือกระเจียว ก่อนพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกครั้ง โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว นำค่าที่ได้หาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ข้อมูล

จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกโดยใช้ชุดจัดจำแนกชนิดแบคทีเรีย API 50CH kit เพื่อการศึกษาต่อไป

4. การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบจุด และ ใบไหม้ ในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี หน่วยทดลองย่อยคือแปลงทดลองขนาด 1.5 x 3.0 เมตร ระยะปลูก 25 x 25 เซนติเมตร จำนวน 30 ต้นต่อแปลง มีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 5

กรรมวิธีที่ 6 แช่หัวพันธุ์ และพ่นซ้ำในแปลงด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช

กรรมวิธีที่ 7 น้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม)

เตรียมแปลงทดลองในพื้นที่ที่พบการระบาดของโรคใบไหม้และใบจุด ที่จังหวัดกาญจนบุรี ขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 x 3.0 เมตร

ทำการทดลองเมื่อเริ่มพบอาการโรคใบไหม้และใบจุด ในแปลงทดลอง โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้มาทำการทดสอบตามกรรมวิธีที่วางไว้ พ่นให้ทั่วต้น และพ่นซ้ำทุก 7 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง บันทึกผลการทดสอบโดยทำการประเมินความรุนแรงของโรคก่อนการพ่นสารทุกครั้ง และหลังพ่นเชื้อครั้งสุดท้ายก่อนบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคใบไหม้ใบจุด ตามวิธีการของ นันทินี และคณะ 2548 ที่ให้คะแนนความรุนแรงของโรคใบไหม้และใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Acremonium* sp. ตามพื้นที่ใบที่พบอาการโรคไหม้ ดังนี้

0 = ไม่เป็นโรค

1 = เป็นโรค 1- 10 % ของพื้นที่ใบ

2 = เป็นโรค 11-20 % ของพื้นที่ใบ

3 = เป็นโรค 21-50 % ของพื้นที่ใบ

4 = เป็นโรค 51-75 % ของพื้นที่ใบ

5 = ใบไหม้แห้งตาย

นำค่าที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีมาหาค่าเฉลี่ย และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกปทุมมาและกระเจียวของเกษตรกร จ.กาญจนบุรี เชียงใหม่ เชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้

เก็บตัวอย่างต้น ใบ หัวพันธุ์ปทุมมา พันธุ์มณีรัตน์ ปทุมรัตน์ มองบลังค์ ทับทิมสยาม เขียวชอคโกแลต ทวิสเตอร์ และขาวมะลิ จำนวน 7 ตัวอย่าง จากพื้นที่ปลูก จ.เชียงราย เชียงใหม่ นครปฐม และกระเจียวพันธุ์ลัดดาวัลย์ จำนวน 2 ตัวอย่าง จากพื้นที่ปลูก นครปฐมและกาญจนบุรี ในปี 2558-2559 เพื่อแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากส่วนต่างๆของพืช จากการทดลองนี้สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากส่วนของใบและต้น จำนวน 19 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท BC 59-01 – BC59-19 และสามารถแยกได้จากส่วนของเหง้าและตุ้มของหัวพันธุ์ จำนวน 42 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท BC 59-38 – BC59-79 (ตารางที่ 1) ส่วนการแยกเชื้อจากดินสามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 18 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท BC 59-20 – BC59-37 ซึ่งจากการ

แยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในครั้งนี้ สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ ทั้งหมด 79 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Acremonium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ จำนวน 79 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Acremonium* sp. ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Dual Culture technique ผลการทดลองพบว่า มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค โดยสามารถแบ่งกลุ่มตามขนาดการสร้าง inhibition zone ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยแบ่งเป็น กลุ่มที่ 1 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีการสร้าง inhibition zone ขนาดกว้าง 1.0 - 2.0 เซนติเมตร จำนวน 19 ไอโซเลท กลุ่มที่ 2 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีการสร้าง inhibition zone ที่มีขนาดกว้าง 0.5 – 0.9 เซนติเมตร จำนวน 21 ไอโซเลท และกลุ่มที่ไม่สร้าง inhibition zone หรือสร้าง inhibition zone ที่มีขนาดกว้าง 0.0 – 0.4 เซนติเมตร จำนวน 38 ไอโซเลท (ภาพที่1) (ตารางที่ 1)

จากการทดลองนี้ ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ กลุ่มที่ 1 ที่มีการสร้าง inhibition zone ขนาดกว้าง 1.0 - 2.0 เซนติเมตร จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ BC59-02, BC59-12, BC59-37, BC59-39, BC59-48, BC59-51, BC59-52, BC59-53, BC59-68 และ BC59-78 จากทั้งหมด 19 ไอโซเลท เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคในสภาพโรงเรือนทดลองต่อไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบไหม้และใบจุด ในสภาพโรงเรือนทดลอง

ทำการปลูกเชื้อ *Acremonium* sp. สาเหตุโรคลงบนพืชทดสอบปทุมมาจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวมะลิ ทวิตเตอร์ มองบลังค์ และกระเจียวจำนวน 1 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ลัดดาวัลย์ ด้วยวิธี toothpick's technique ที่บริเวณใบ จำนวน 1-2 แผล ต่อใบ ทั้งหมด 10 กระถาง บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจสอบการเกิดโรคและประเมินการเกิดโรคก่อนพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ Bc-02, Bc-12, Bc-30, Bc-39, Bc-48, Bc-51, Bc-52, Bc-60, Bc-67 และBc-78 ที่เตรียมไว้ไปพ่นให้ทั่วต้นพืชทดสอบที่เตรียมไว้ และทำการพ่นซ้ำทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง โดยประเมินการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบในแต่ละพันธุ์ ก่อนการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกครั้ง โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ซึ่งจากการปลูกเชื้อสาเหตุโรคบนใบของพันธุ์ปทุมมาและกระเจียวทั้งหมด 4 พันธุ์นั้น ผลการทดลองพบว่า ในกระเจียวพันธุ์ลัดดาวัลย์ สามารถเกิดโรคใบไหม้ ใบจุดได้รุนแรงที่สุดภายใน 24 ชม. รองลงมาได้แก่ พันธุ์มองบลังค์, ทวิตเตอร์ และ ขาวมะลิ ตามลำดับ และเมื่อทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทลงบนพืชทดสอบ จำนวน 4 ครั้ง และทำการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้น พบว่า

ในปทุมมาพันธุ์ขาวมะลิ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-48 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.19 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-39 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.23 เซนติเมตร และไอโซเลท Bc-52 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.25 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.43 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) (ตารางที่ 2)

ในปทุมมาพันธุ์ทวิตเตอร์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-52 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.26 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-02 และไอโซเลท Bc-78 มีขนาดแผลเฉลี่ยเท่ากัน คือ 0.28 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.45 เซนติเมตร (ภาพที่ 3) (ตารางที่ 2)

ในปทุมมาพันธุ์มองบลังค์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-52 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.50 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-60 และไอโซเลท Bc-12 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.51 และ 0.52 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.75 เซนติเมตร (ภาพที่ 4) (ตารางที่ 2)

ส่วนในกระเจียวพันธุ์ลัดดาวัลย์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-78 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.47 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-48 และไอโซเลท Bc-60 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.56 และ 0.59 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 1.00 เซนติเมตร (ภาพที่ 5) (ตารางที่ 2)

ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดแผลบนใบปทุมมาและกระเจียวได้ดีในสภาพโรงเรือน ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ Bc-48, Bc-39, Bc-52, Bc-02, Bc-78, Bc-60และ Bc-12 และจะได้นำไปทำการทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในปี 2558-2559 ทำการเก็บตัวอย่าง หัวพันธุ์ปทุมมาและกระเจียว จำนวน 9 ตัวอย่าง จากพื้นที่ปลูก จ.เชียงราย เชียงใหม่ นครปฐม และกาญจนบุรี และตัวอย่างต้น ใบปทุมมาและกระเจียว 10 ตัวอย่าง และตัวอย่างดิน 10 ตัวอย่าง มาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากส่วนของพืชและดิน พบว่า สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้งหมด 79 ไอโซเลท โดยแยกได้จากส่วนของเหง้าและตุ้ม จำนวน 42 ไอโซเลท และแยกได้จากส่วนของใบและต้นปกติ จำนวน 17 ไอโซเลท จากราก จำนวน 2 ไอโซเลท และจากดินแยกได้ จำนวน 18 ไอโซเลท

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทั้งหมด 79 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ พบว่า สามารถคัดเลือกและแบ่งตามประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ได้ 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีการสร้าง inhibition zone ขนาดกว้าง 1.0 - 2.0 เซนติเมตร จำนวน 19 ไอโซเลท กลุ่มที่ 2 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีการสร้าง inhibition zone ที่มีขนาดกว้าง 0.5 – 0.9 เซนติเมตร จำนวน 21 ไอโซเลท และกลุ่มที่ไม่สร้าง inhibition zone หรือสร้าง inhibition zone ที่มีขนาดกว้าง 0.0 – 0.4 เซนติเมตร จำนวน 38 ไอโซเลท

ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Acremonium* sp. สาเหตุโรคใบไหม้และใบจุดในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท ลงบนพืช

ทดสอบ จำนวน 4 ครั้ง ทุก 5 วัน และทำการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นก่อนการพ่นเชื้อทุกครั้ง จากการทดลองพบว่า

ในปทุมมาพันธุ์ขาวมะลิ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-48 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.19 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-39 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.23 เซนติเมตร และไอโซเลท Bc-52 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.25 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.43 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) (ตารางที่ 2)

ในปทุมมาพันธุ์ทวิตเตอร์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-52 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.26 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-02 และไอโซเลท Bc-78 มีขนาดแผลเฉลี่ยเท่ากัน คือ 0.28 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.45 เซนติเมตร (ภาพที่ 3) (ตารางที่ 2)

ในปทุมมาพันธุ์มองบลังค์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-52 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.50 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-60 และไอโซเลท Bc-12 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.51 และ 0.52 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 0.75 เซนติเมตร (ภาพที่ 4) (ตารางที่ 2)

ส่วนในกระเจียวพันธุ์ลัดดาวัลย์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท Bc-78 สามารถยับยั้งการเกิดแผลได้ดี มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.47 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท Bc-48 และไอโซเลท Bc-60 มีขนาดแผลเฉลี่ย 0.56 และ 0.59 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งพบว่ามีขนาดแผลเฉลี่ย 1.00 เซนติเมตร (ภาพที่ 5) (ตารางที่ 2)

ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดแผลบนใบปทุมมาและกระเจียวได้ดีในสภาพโรงเรือน ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ Bc-48, Bc-39, Bc-52, Bc-02, Bc-78, Bc-60และ Bc-12 และจะได้นำไปทำการทดสอบประสิทธิภาพในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธารทิพย ภาสบุตร, ทัศนาพร ทัศคร, พีระวรรณ พัฒนวิภาส, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ สุธามาศ ณ น่าน. 2554. การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ใบจุดของปทุมมา.หน้า 342-346 เล่มที่ 1 *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. โรคของปทุมมา กระเจียว ดาหลา. หน้า 57-67 *ใน* คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

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

Mahadtanapuk, S., M. Sanguansermsri, R.W. Cutler, V. Sardsud and S. Anuntalabhochai. 2007. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum musae* on *Curcuma alismatifolia* Gagnep. using antagonistic *Bacillus* spp. Am. J. Agric. Biol. Sci. 2 : 54-61.

Table 1 Efficacy of antagonistic bacteria for controlling mycerial growth of *Acremonium* sp.

Isolates	Source of Isolation	Clear zone (cm.)	Ø Colony *Acremonium* sp. (cm.)
Bc-59- 01	Leaf/ laddawan	1.0	3.6
Bc-59- 02	Leaf/ laddawan	1.5	3.0
Bc-59- 03	Leaf/ laddawan	0.1	5.5
Bc-59- 04	Leaf/ laddawan	0.0	6.0
Bc-59- 05	Leaf/ laddawan	0.0	6.0
Bc-59- 06	Leaf/ laddawan	0.0	4.8
Bc-59- 07	Leaf/ laddawan	0.7	3.8
Bc-59- 08	stem/ laddawan	0.0	6.0
Bc-59- 09	root/ laddawan	0.0	5.5
Bc- 59- 10	stem/ laddawan	0.0	5.0
Bc- 59- 11	Leaf/ Ruby	0.0	5.0
Bc-59- 12	Leaf/ Ruby	1.2	3.0
Bc -59 -13	Leaf/ Ruby	0.8	4.0
Bc- 59- 14	Leaf/ Ruby	0.2	3.7
Bc- 59- 15	root/ Ruby	0.0	4.9
Bc- 59- 16	Leaf/ Maneerat	0.2	5.0
Bc- 59- 17	stem/ Maneerat	0.9	3.8
Bc- 59- 18	stem/ Maneerat	0.9	3.0
Bc- 59- 19	Leaf/ Maneerat	0.1	6.3
Bc- 59- 20	Soil/ Green choc	0.0	5.4
Bc- 59- 21	Soil/ Green choc	0.0	5.4
Bc- 59- 22	Soil/ Green choc	0.2	4.8
Bc- 59- 23	Soil/ Green choc	0.0	4.6
Bc- 59- 24	Soil/ Green choc	0.0	5.3
Bc- 59- 25	Soil/ Green choc	0.0	5.3
Bc- 59- 26	Soil/ Green choc	0.0	5.5
Bc- 59- 27	Soil/ Green choc	0.0	5.5
Bc- 59- 28	Soil/ Green choc	0.1	5.2
Bc- 59- 29	Soil/ Green choc	0.2	3.0
Bc-59- 30	Soil/ Green choc	1.1	5.0
Bc- 59- 31	Soil/ twister	0.0	3.0
Bc- 59- 32	Soil/ twister	0.2	4.7

Table1 (Cont.)

Isolates	Source of Isolation	Clear zone(cm.)	Ø Colony *Acremonium* sp. (cm.)
Bc- 59- 33	Soil/ twister	0.2	4.8
Bc- 59- 34	Soil/ twister	0.0	5.5
Bc- 59- 35	Soil/ twister	0.3	4.4
Bc- 59- 36	Soil/ twister	0.0	5.5
Bc- 59- 37	Soil/ twister	1.3	2.2
Bc-59- 38	Rhizome/laddawan	0.6	3.7
Bc-59- 39	Rhizome/laddawan	1.4	3.0
Bc-59- 40	Rhizome/laddawan	0.3	4.8
Bc-59- 41	Rhizome/laddawan	0.6	4.0
Bc-59- 42	Rhizome/laddawan	0.4	4.8
Bc-59- 43	Rhizome/Maneerat	0.5	4.0
Bc-59- 44	Rhizome/Maneerat	0.0	4.2
Bc-59- 45	Rhizome/Maneerat	0.0	0.0
Bc-59- 46	Rhizome/Mont Blanc	0.4	4.4
Bc- 59- 47	Rhizome/ Mont Blanc	0.4	4.2
Bc- 59- 48	Rhi zome/ Mont Blanc	1.3	2.1
Bc-59- 49	Rhizome/Maneerat	1.1	4.0
Bc -59 -50	Rhizome/Maneerat	0.7	4.0
Bc- 59- 51	Rhizome/Maneerat	1.8	2.1
Bc- 59- 52	Rhizome/Maneerat	1.7	2.3
Bc- 59- 53	Rhizome/Ruby	2.0	2.5
Bc- 59- 54	Rhizome/Ruby	0.9	3.2
Bc- 59- 55	Rhizome/Ruby	1.0	3.9
Bc- 59- 56	Rhizome/Ruby	1.0	3.3
Bc- 59- 57	Rhizome/Green choc	0.8	3.9
Bc- 59- 58	Rhizome/Green choc	0.8	4.0
Bc- 59- 59	Rhizome/Green choc	1.1	3.0
Bc- 59- 60	Rhizome/Green choc	0.8	4.2
Bc- 59- 61	Rhizome/twister	1.1	3.6
Bc- 59- 62	Rhizome/twister	0.3	4.5
Bc- 59- 63	Rhizome/twister	0.9	3.8
Bc- 59- 64	Rhizome/twister	0.8	4.2
Bc- 59- 65	Rhizome/twister	1.1	3.5
Bc- 59- 66	Rhizome/twister	0.7	4.3

Table1 (Cont.)

Isolates	Source of Isolation	Clear zone (cm.)	Ø Colony *Acremonium* sp. (cm.)
Bc-59- 67	Rhizome/twister	1.0	3.0
Bc- 59- 68	Rhizome/Ruby	1.2	3.2
Bc- 59- 69	Rhizome/Ruby	0.8	3.8
Bc- 59- 70	Rhizome/Ruby	0.9	4.0
Bc- 59- 71	Rhizome/Ruby	0.7	4.3
Bc- 59- 72	Rhizome/Ruby	0.7	3.8
Bc- 59- 73	Rhizome/Pathumrat	0.4	4.7
Bc- 59- 74	Rhizome/Pathumrat	1.0	3.3
Bc- 59- 75	Rhizome/Pathumrat	0.9	4.0
Bc- 59- 76	Rhizome/Jasmine white	0.3	4.9
Bc- 59- 77	Rhizome/Jasmine white	0.9	3.2
Bc- 59- 78	Rhizome/Jasmine white	1.9	2.0
Bc- 59- 79	Rhizome/Jasmine white	0.2	5.5
Control	-	-	6.6

Table 2 Efficacy of 10 antagonistic bacteria isolates in inhibition the lesion on Curcuma leaf in greenhouse

Isolates	Average of the lesion on leaf after spraying 4 time (cm.)			
	Jasmine White	Twitter	Monblance	Laddawan
T1 Bc-02	0.31	0.28	0.56	0.72
T2 Bc-12	0.29	0.29	0.52	0.87
T3 Bc-30	0.31	0.31	0.70	0.68
T4 Bc-39	0.23	0.39	0.64	0.69
T5 Bc-48	0.19	0.31	0.60	0.56
T6 Bc-51	0.30	0.33	0.74	0.74
T7 Bc-52	0.25	0.26	0.50	0.71
T8 Bc-60	0.31	0.29	0.51	0.59
T9 Bc-67	0.32	0.31	0.54	0.64
T10Bc-78	0.31	0.28	0.66	0.47
Control	0.43	0.45	0.75	1.00

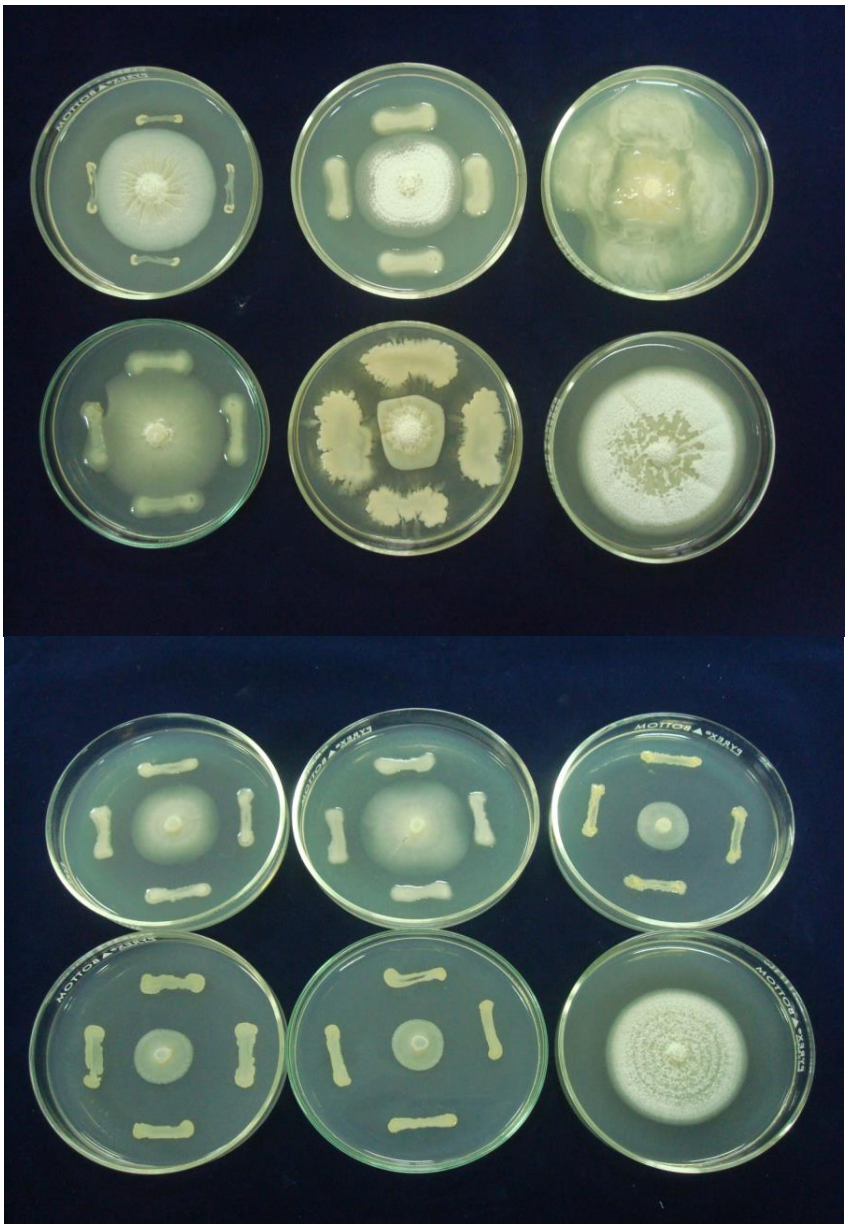

Figure 1 Efficacy of antagonistic bacteria for controlling mycerial growth of *Acremonium* sp. in laboratory

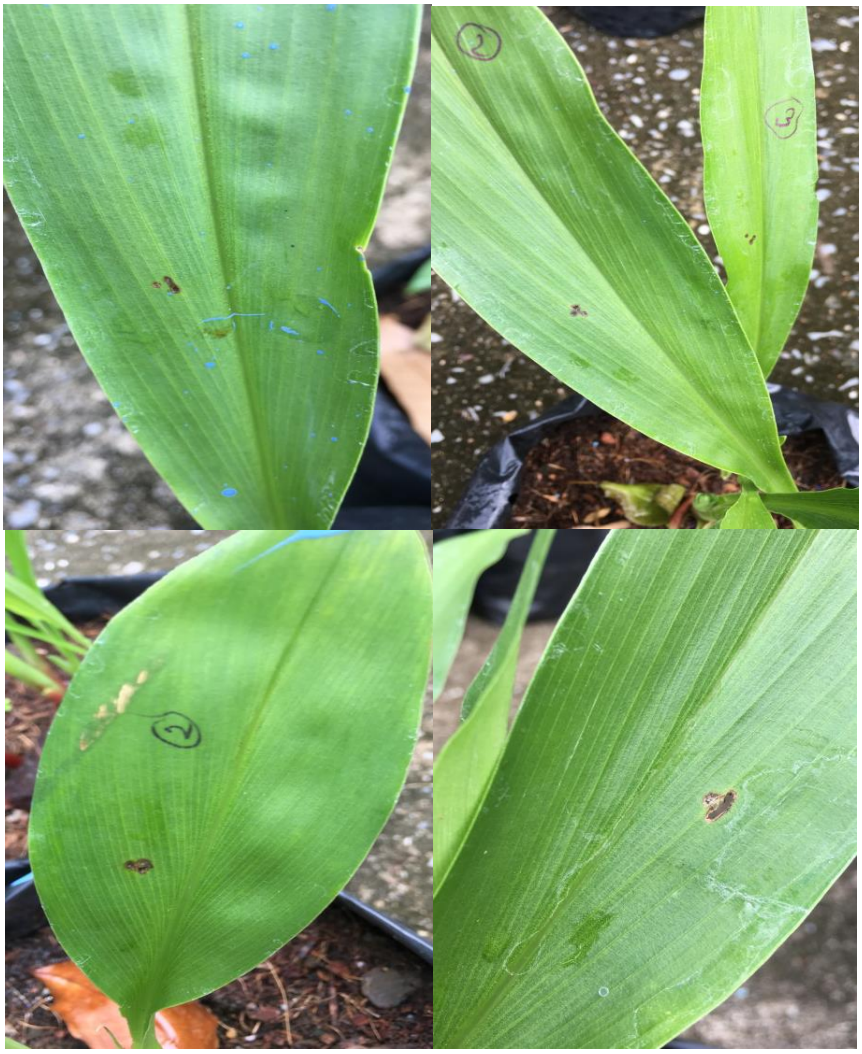

Figure 2 Efficacy of antagonistic bacteria for inhibition the leaf lesion in Jasmine White variety in greenhouse

Figure 3 Efficacy of antagonistic bacteria for inhibition the leaf lesion in Twitter variety in greenhouse

Figure 4 Efficacy of antagonistic bacteria for inhibition the leaf lesion in Monblance variety in greenhouse

Figure 5 Efficacy of antagonistic Bacteria for inhibition the leaf lesion in Laddawan variety in greenhouse