การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในระดับเกษตรกร

The development of application technique of antagonistic bacteria to control bacterial wilt of potato for farmer application

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/]
รุ่งนภา ทองเครึ่ง[1/] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ในสภาพแปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ แต่ละกรรมวิธีใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงต่างกัน คือ แช่หัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยผงเชื้อก่อนปลูก รองก้นหลุมด้วยผงเชื้อก่อนปลูก และคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยผงเชื้อก่อนปลูก จากนั้นรดด้วยสารละลายผงเชื้ออัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ในทุกกรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผง พบว่ากรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 37.8 เปอร์เซ็นต์ กรรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 36.2 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 34.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวเท่ากับ 88.4 สรุปได้ว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้มันฝรั่งในแปลงทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง

รหัสการทดลอง 01-36-54-03-01-00-04-55

คำนำ

แบคทีเรีย *R. solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยวที่ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ตั้งแต่พืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ *Solanaceae* (Hayward, 1964) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่แบคทีเรียเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรีย ในประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยากเนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง และเป็นที่ยอมรับอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้อง และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรีย จนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลายเช่น รา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *B. 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 ใส่ลงในดินที่มีแบคทีเรียสาเหตุโรค สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจาก 70 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ Aspiras and de la Cruz (1985) ได้รายงานการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* FU 6 และ *Pseudomonas fluorescens* ที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ และมันฝรั่ง เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญที่บริเวณรากของต้นกล้าได้ดี และสามารถป้องกันการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *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* เมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของต้นมะเขือเทศที่เจริญเติบโตในดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดี Sanaina *et al.* (1997) ศึกษาแบคทีเรียจากบริเวณรากของต้นมันฝรั่งโดยแยกแบคทีเรียจากรากของต้นปกติและรากของต้นที่เป็นโรค นำมาคัดเลือก

แบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus cereus, B. subtilis* และ *Enterobacter cloaceae* ที่แยกได้จากรากมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยทำการศึกษากับดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* 3 แห่งของประเทศอินเดีย คือ เมือง Bhowali Palampur และ Bhubaneswar สามารถลดการเกิดโรคได้ 66-83%, 27-70% และ 24-71% ตามลำดับ และพบว่าที่เมือง Bhowali และ Bhubaneswar มีผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 160% Guo *et al.* (2002) รายงานการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี โดยใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* สายพันธุ์ J3, แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* สายพันธุ์ BB11 และ FH17 ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตให้ต้นพริก (Plant Growth Promoting Rhizosphere Bacteria) สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ 30% ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 % ตามลำดับ และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100% ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 % ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50% แต่เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200% ในประเทศไทยมีการนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่แยกได้จากรากยาสูบ (ดินรากยาสูบ no.4) มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และพบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพืชหลายชนิดได้ ณัฏฐิมา และคณะ (2551) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวในแปลงมันฝรั่งของเกษตรกร เพื่อป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ตู้แช่แข็ง (Freezer) –20 องศาเซลเซียส
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter, Shaker, Spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi model 2001
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน ปุ๋ย สารกำจัดแมลง สารป้องกันกำจัดโรคพืช และหัวพันธุ์มันฝรั่ง

วิธีการ

1 การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4

การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่าย เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เติมสารละลาย 0.1M magnesium sulfate ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ carboxymethylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกก่อนนำไปใช้ทดสอบในแปลงต่อไป (Xu and Gross, 1986)

การตรวจปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จที่ผลิตได้ นำผงสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ***B. subtilis*** สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 จำนวน 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

2. ทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

การเตรียมแปลงทดลอง เตรียมแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยอบดินด้วยยูเรียผสมกับปูนขาวอัตรา 80 ต่อ 800 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1 ไร่ เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในดิน หลังจากอบดิน 3 สัปดาห์ จึงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่ำเสมอ โดยปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวลงในแปลงทดสอบ เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 21 วัน ปลูกด้วยแบคทีเรีย *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ลงบนต้นมะเขือเทศ โดยวิธี clipping method ทิ้งไว้ 1 เดือน เมื่อต้นมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยว จึงสับต้นมะเขือเทศให้ละเอียดและปล่อยให้ย่อยสลายในดิน จากนั้นเตรียมแปลงทดลองขนาด 3.2 x 4 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อยๆ ละ 80 หัว เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองต่อไป

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก (10 กรัม/มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีควบคุม ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4

การตรวจผลการทดลอง

1. ตรวจเช็คปริมาณเชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในแปลงปลูกโดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
2. ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรียสาเหตุโรค *R. solanacearum* ในแปลงปลูก โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
3. ตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรคทุกเดือน

ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงปลูกมันฝรั่งที่ศูนย์วิจัยการเกษตรจังหวัดเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4

การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, carboxymethylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และสารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่ผลิตได้ โดยนำส่วนผสมผงสำเร็จแบคทีเรีย 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เตรียมจากอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) คือ 1.7×10^{10} หน่วยโคโลนี/กรัม

2. ทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยและ

พัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มปลูกมันฝรั่งในวันที่ 24 มกราคม 2555 ตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ และทำการตรวจสอบจำนวนต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยวทุก 2 สัปดาห์ พบว่ากรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง และกรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีการเกิดโรคเหี่ยว 37.8, 36.2 และ 34.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่เป็นโรคเหี่ยว 88.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 2.80 x10^4, 4.25 x 10^4 และ 5.35 x 10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 3.60 x10^4, 5.45 x 10^4 และ 2.70 x 10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 3.40 x 10^4, 4.40 x 10^4 และ 2.60 x 10^4 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 1.90 x10^5, 5.31 x 10^3 และ 2.18 x 10^2 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 4.62 x10^5, 6.20 x 10^3 และ 1.72 x 10^2 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 2.75 x 10^5, 6.80 x 10^4 และ 4.45 x 10^2 ตามลำดับ ส่วนกรรมกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 5.50x10^5, 7.30x10^5 และ 6.45x10^5 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 และแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง คือ กรรมวิธีที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ทั้ง 3 กรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ และทั้ง 3 กรรมวิธีก็มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ใกล้เคียงกัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกัน และทั้ง 3 กรรมวิธีมีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของทั้ง 3 กรรมวิธีต่ำกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรมวิธีที่ไม่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ที่มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* คงที่ไม่ลดลง

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	การเกิดโรคเหี่ยว (เปอร์เซ็นต์)
1.แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	37.8a[1/]
2.รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	36.2a
3.คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	34.4a
4.ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)	88.4b
CV (%)	21.92

[1/] ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ประชากรของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	2.80×10^4	4.25×10^4	5.35×10^4
2. กรรมวิธีที่ 2	3.60×10^4	5.45×10^4	2.70×10^4
3. กรรมวิธีที่ 3	3.40×10^4	4.40×10^4	2.60×10^4

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน

ตารางที่ 3 ประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	1.90×10^5	5.31×10^3	2.18×10^2
2. กรรมวิธีที่ 2	4.62×10^5	6.20×10^3	1.72×10^2
3. กรรมวิธีที่ 3	2.75×10^5	6.80×10^4	4.45×10^2
4. กรรมวิธีที่ 4	5.50×10^5	7.30×10^5	6.45×10^5

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในสภาพแปลงทดลอง พบว่ากรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 37.8 เปอร์เซ็นต์ กรรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 36.2 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 34.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวเท่ากับ 88.4 สรุปได้ว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้มันฝรั่งในแปลงทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

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.

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.

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.

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