

การพัฒนาารูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผง *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ
สายพันธุ์ ดินอ้อย no 6 เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา
Development of powder formulation of *Bacillus subtilis* 4415 strain
and sugarcane soil no.6 strain for controlling *Curcuma* bacterial wilt
disease

ณัฐริมา โขษิตเจริญกุล^{1/} ดารุณี ปุณฺณพิทักษ์^{1/} ทิพวรรณ กันหาญาติ^{1/}
รุ่งนภา ทองเครื่อง^{1/} วิภาดา ทองทักษิณ^{2/} สุธามาศ ณ น่าน^{3/}
^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน
^{3/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

รายงานความก้าวหน้า

การเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดผง *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 โดยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 เพื่อเพิ่มปริมาณ ดำเนินการเลี้ยงในอาหารเหลว NGB และอาหารแข็ง NGA นำแบคทีเรียที่เพิ่มปริมาณได้ไปทำเป็นผงเชื้อโดยใช้ผงทาคัมเป็นวัสดุรองรับ ผลิตผงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 จำนวน 2 กิโลกรัม ทดสอบอายุของการเก็บรักษาผงเชื้อ นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ในผงเชื้อทุกเดือนเพื่อเช็คความอยู่รอดและปริมาณ พบว่า ทดสอบอายุของการเก็บรักษาผงเชื้อ เป็นเวลา 15 เดือน พบว่า ผงเชื้อ มีอายุการเก็บรักษาที่ยังคงมีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ในผงเชื้อพบว่ามีปริมาณ 1×10^{10} cfu/g ที่ 12 เดือน หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรีย *B. Subtilis* จะลดลงโดยที่เก็บรักษาไว้ 15 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ที่ 6.4×10^6 cfu/g และนำผงเชื้อไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าราวดด้วยผงเชื้อ ในอัตรา 1.5 กรัม/น้ำ 5 ลิตรรดทุก 7 วันให้ผลดีที่สุดด้วยสามารถควบคุมโรค ได้ 60%

รหัสการทดลอง 01-32-54-01-01-01-54

คำนำ

ปทุมมาเป็นไม้พื้นเมืองของประเทศไทยที่นิยมนำไปเป็นไม้ประดับและไม้ตัดดอก มีการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปขายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ปัญหาสำคัญที่พบในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมามีโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) ระบาดทำความเสียหายให้กับเกษตรกรและผู้ส่งออก แบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิด โดยเฉพาะในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่พืชเศรษฐกิจของประเทศ และเป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียชนิดนี้ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียทางดินสามารถอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้แบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์หรือส่วนขยายพันธุ์ได้ ทำให้การแพร่ระบาดของโรคนี้อาจสามารถแพร่ได้อย่างรวดเร็วและทั่วประเทศเมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ไปปลูกในที่ต่าง ๆ ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลายสภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรีย นอกจากนี้แบคทีเรีย *R. solanacearum* ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช ถ้าพบแบคทีเรียชนิดนี้ติดไปกับหัวพันธุ์ที่ส่งออก หัวพันธุ์เหล่านั้นจะถูกเผาทำลายทันที ทำให้ไม่สามารถส่งออกได้

การป้องกันกำจัดโรคนี้นั้นทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้นี้ วิธีการป้องกันกำจัดยังคงจำกัด ได้มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธี ในการป้องกันกำจัดโรคนี้นี้ ซึ่งการใช้วิธีควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีนี้ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับและส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาใช้โดยตระหนักถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมและช่วยแก้ปัญหาการถือสารเคมีของศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการพิจารณาใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืชแก่เกษตรกร

การป้องกันกำจัดโรคนี้นั้นทำได้ยากเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวกับพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ปทุมมา มันฝรั่ง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้วิธีการจัดการดิน วิธีเขตกรรม ร่วมกับการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง

ณัฐธิดา *et al.* (2551) ศึกษาการเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* ดินรกายาสูบ no. 4 โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* ดินรกายาสูบ no. 4 บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และ บนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผง talcum 1:4 (V:W) ได้ปริมาณแบคทีเรียในผงเชื้อคือ 1.1×10^{10} และ 0.7×10^{10} CFU/กรัม ตามลำดับ นำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรกายาสูบ no. 4 ที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4°C มีชีวิตอยู่รอดได้ 12 เดือน และ 15 เดือน ตามลำดับ เมื่อ

นำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรกายาสูบ no. 4 ที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของชิงพบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60 % ในเรือนทดลองและ 30-37 % ในแปลงทดลองปีที่ 1 และ 67.5-72.5% ในปีที่สอง

ณัฐริมา *et al* (2551) ได้คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4415 และ รากอ้อย no.6 ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลองได้ 43 และ 40 % ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* เตรียมในรูปเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์ และ/หรือราดลงบนดินซึ่งเป็นการไม่สะดวกต่อเกษตรกรที่จะนำไปใช้ในสภาพแปลง และวิธีการปฏิบัติเช่นนี้ ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มักไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลล์แบคทีเรียตายลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนารูปแบบการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพแล้ว ให้อยู่ในรูปที่ง่ายต่อการบรรจุหีบห่อ ขนส่ง และเกษตรกรนำไปใช้ได้สะดวก และสามารถนำไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆได้

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อปฏิปักษ์ปฏิปักษ์ 4415 และ รากอ้อย no.6 ให้อยู่ในรูปที่ง่ายต่อการบรรจุหีบห่อ ขนส่ง และเกษตรกรนำไปใช้ได้สะดวก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และสายพันธุ์ ดินอ้อย no 6

1.1 การเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* บนอาหารแข็ง

เลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง เติมสารละลาย magnesium sulfate (0.1 M) 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ methylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารพวง talc ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดี

ก่อนนำไปฝังให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh เก็บไว้
ถุงพลาสติกก่อนนำไปศึกษาต่อไป (Xu and Gross, 1986)

1.2 การเพิ่มปริมาณ *B.subtilis* บนอาหารเหลว

เลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ 150 rpm.
นาน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ผสม carboxymethylcellulose 10 กรัมกับผง talc 1 กิโลกรัม นำ
ส่วนผสมไปนึ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที 2 วัน ติดต่อกันวันละครั้ง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย
ปริมาณ 400 มล. เทลงในส่วนผสมของผง talc และ carboxymethylcellulose 1 กิโลกรัม ผสมให้
เข้ากันดีในสภาพปลอดเชื้อ บรรจุในถุงพลาสติก (Vidhyasekaran and Muthamilan, 1995)

2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้

นำส่วนผสมผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บน
อาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *B.subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

3. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

ทดสอบความอยู่รอดของเชื้อ *B. subtilis* และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆของหัว
เชื้อที่ผลิตได้ โดยทดสอบ 2 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ
ทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษา 15 เดือน ทำการตรวจนับปริมาณตรวจนับเชื้อ *B.subtilis* ทุก
เดือน

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือน
ทดลอง

4.1 การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

เลี้ยงเชื้อ *R.solanacearum* บนอาหารแข็ง Wakimoto's semisynthetic potato medium
(PSA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำนิ่ง 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียผสมในน้ำเพื่อ
เตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ปรับให้มีความเข้มข้น 1×10^6 cfu/ml. นำไปผสมคลุกเคล้ากับ
ดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อัตรา 1:10 (ปริมาตร:น้ำหนัก) นำดินที่ผสมเชื้อสาเหตุโรคไปตรวจหาปริมาณเชื้อ
R.solanacearum โดยวิธี soil dilution plates ก่อนนำดินไปบรรจุในกระถางเพื่อเตรียมไว้ปลูกพืช
ทดสอบต่อไป

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือน
ทดลอง

วางแผนการทดลอง RCB 4 ซ้ำๆละ 10 ต้น จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 สูตรผง 0.5 กรัม/น้ำ 5 ลิตร ทุก 7 วัน
- กรรมวิธีที่ 2 สูตรผง 1.0 กรัม/น้ำ 5 ลิตร ทุก 7 วัน
- กรรมวิธีที่ 3 สูตรผง 1.5 กรัม/น้ำ 5 ลิตร ทุก 7 วัน
- กรรมวิธีที่ 4 สูตรผง 2.0 กรัม/น้ำ 5 ลิตร ทุก 7 วัน
- กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม รดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์ปทุมมา ล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งมาคลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำไปปลูกในดินที่เตรียมไว้ในข้อ 4.1 จากนั้นเตรียมผงเชื้อตามกรรมวิธีที่กำหนด นำไปรดพืชทดสอบที่ปลูกไว้ในกระถางทุก 1 สัปดาห์ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกด้วยหัวพันธุ์ปทุมมาที่ไม่ได้คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* และใช้น้ำนึ่งรดพืชทดสอบแทนการใช้เซลล์แขวนลอยแบบที่เรีย

4.3 การบันทึกข้อมูล

4.3.1 บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* ในดินที่เตรียมไว้ก่อนนำไปใช้ปลูกพืชทดสอบ

4.3.2 บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* และ *B.subtilis* ในดินที่ใช้ปลูกพืชทดสอบแล้วทุกสัปดาห์

4.3.3 บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกสัปดาห์

5. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลอง

5.1 การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

เตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียสาเหตุโรค *R.solanacearum* ปลูกเชื้อกับต้นกล้ามะเขือเทศเพื่อให้เป็นโรคเหี่ยว แล้วนำต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคสับให้ละเอียดผสมคลุกเคล้ากับดินในแปลงทดสอบที่มีการควบคุมอย่างดี สุ่มตัวอย่างดินไปตรวจนับปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* ด้วยวิธี soil dilution plates

5.2 การคลุกหัวพันธุ์ปทุมมาด้วยผงเชื้อ *B.subtilis*

นำหัวพันธุ์ปทุมมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำมาปลูกในแปลงทดลองที่เตรียมไว้ในข้อ 1 จากนั้นนำผงเชื้อ *B.subtilis* ผสมน้ำนึ่งเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย นำไปรดพืชทดสอบที่ปลูกไว้ในแปลงทุกสัปดาห์ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกด้วยหัวพันธุ์ปทุมมาที่ไม่ได้คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* และใช้น้ำนึ่งรดพืชทดสอบแทนการใช้เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย

5.3 การบันทึกข้อมูล

5.3.1 บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบก่อนนำพืชไปปลูก

5.3.2 บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* และ *B.subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบที่ใช้ปลูกพืชทดสอบทุกสัปดาห์

5.3.3 บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกสัปดาห์

5.3.4 บันทึกน้ำหนักของผลผลิต

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 - ก.ย.56 ที่กลุ่มงานבקเตรียวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร และ แปลงเกษตรกร จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดผง *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 โดยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 เพื่อเพิ่มปริมาณ ดำเนินการเลี้ยงในอาหารเหลว NGB และอาหารแข็งNGA นำแบคทีเรียที่เพิ่มปริมาณได้ไปทำเป็นผงเชื้อโดยใช้ผงทาคัมเป็นวัสดุรองรับ ผลิตผงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 จำนวน 2 กิโลกรัม ทดสอบอายุของการเก็บรักษาผงเชื้อ นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ในผงเชื้อทุกเดือนเพื่อเช็คความอยู่รอดและปริมาณ พบว่า ทดสอบอายุของการเก็บรักษาผงเชื้อ เป็นเวลา 15 เดือน พบว่า ผงเชื้อ มีอายุการเก็บรักษาที่ยังคงมีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ในผงเชื้อพบว่ามีปริมาณ 1×10^{10} cfu/g ที่ 12 เดือน หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรีย *B. Subtilis* จะลดลงโดยที่เก็บรักษาไว้ 15 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ที่ 6.4×10^6 cfu/g และนำผงเชื้อไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าราดด้วยผงเชื้อ ในอัตรา 1.5 กรัม/น้ำ 5 ลิตรรดทุก 7 วันให้ผลดีที่สุดด้วยสามารถควบคุมโรค ได้ 60%

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดผง *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 โดยเลี้ยงในอาหารเหลว NGB และอาหารแข็งNGA นำแบคทีเรียที่เพิ่มปริมาณได้ไปทำเป็นผงเชื้อโดยใช้ผงทาคัมเป็นวัสดุรองรับ ทดสอบอายุของการเก็บรักษาผงเชื้อ เป็นเวลา 15 เดือน พบว่า ผงเชื้อ มีอายุการเก็บรักษาที่ยังคงมีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ในผงเชื้อพบว่ามีปริมาณ 1×10^{10} cfu/g ที่ 12 เดือน หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรีย *B. Subtilis* จะลดลงโดยที่เก็บรักษาไว้ 15 เดือน มีปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ 4415 และ อ้อย no.6 ที่ 6.4×10^6 cfu/g และนำผงเชื้อไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าราดด้วยผงเชื้อ ในอัตรา 1.5 กรัม/น้ำ 5 ลิตรรดทุก 7 วันให้ผลดีที่สุดด้วยสามารถควบคุมโรค ได้ 60% อยู่ในระหว่างการทดสอบในสภาพแปลงทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน. 2541. ศึกษาเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา. รายงานผลงานวิจัย ปี 2541. กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 24-35.
- ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์ 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)
- ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล วิภาดา ทองทักษิณ และสุธามาศ ณ น่าน 2551. การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)
- วิภาดา ทองทักษิณ และ นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2537. ปทุมมา. กสิกร. 67(5):415-419.
- สุนตรา ภาวิจิตร , ณัฐจิมา บุญวัฒน์ และนิยมรัฐ ไตรศรี. 2538. โรคเหี่ยวของกระเจียวและปทุมมา ข้าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 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. Gottlieb. 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., Baltimore.

- 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. *Phytopathology* 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 Bacteria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.