การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยชีววิธี

Biocontrol of Northern Corn Leaf Blight

พีระวรรณ พัฒนาวิภาส[1] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1] ทัศนาพร ทัศคร[1] ศิวิไล ลาภบรรจบ[2]

[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่มาทำการแยกเชื้อและศึกษาเชื้อที่แยกได้พบว่าคือ *Exerohilum turcic*um จำนวน 3 isolate นำเชื้อที่แยกได้จำนวน 1 isolate มาทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการกับจุลินทรีย์ที่แยกได้จากใบข้าวโพดที่บริเวณผิวพืชโดยวิธี leaf wash technigue ในปี พ.ศ. 2551 ทดสอบลินทรีย์จำนวน 25 isolate บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 3 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน และในปี พ.ศ. 2552 ทดสอบลินทรีย์จำนวน 31 isolate บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 22 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *E. turcic*um มากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลอง พบว่ากรรมวิธีการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่มีความแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แต่มีจุลินทรีย์ จำนวน 1 isolate มีแนวโน้มในการยับยั้งโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดได้

รหัสการทดลอง 07-01-49-02-17-01-01-51

คำนำ

โรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดมีสาเหตุจากเชื้อรา *Exerohilum turcic*um เป็นโรคหนึ่งที่ระบาดรุนแรงในหลายพื้นที่ โดยเฉพาะในเขตภาคตะวันตก และภาคเหนือ เช่น จ.กาญจนบุรี จ.เพชรบุรี จ.ราชบุรี และ จ.เชียงใหม่ โรคนี้พบได้ตลอดฤดูเพาะปลูก โดยเฉพาะในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำและความชื้นสูงโรคจะระบาดรุนแรงมาก (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) นอกจากนี้ปัจจุบันยังพบการเกิดโรคเพิ่มขึ้นในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคและเชื้อสาเหตุโรคของข้าวโพดเพื่อการนำเข้า ในปี 2547 พีระวรรณ และคณะ (2549) ได้ทำการสำรวจโรคในแหล่งปลูกข้าวโพดในเขตภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 จังหวัด พบการระบาดของโรคใบไหม้แผลใหญ่ใน จ.นครราชสีมา จ.นครพนม และ จ.ตาก และในปี 2548 ได้ทำการสำรวจโรคในเขตภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 จังหวัด พบการระบาดของโรคใน จ.สุโขทัย จ.ตาก และ จ.นครราชสีมา ในปีการผลิต 2549 พบว่า โรคใบไหม้แผลใหญ่มีการระบาดรุนแรง และทำความเสียหายต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวโพดหวานในแหล่งผลิตที่สำคัญอย่างรุนแรง (สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย และคณะ, 2549) โรคใบไหม้แผลใหญ่มักเริ่มพบเมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 45 วัน หรือก่อนข้าวโพดออกดอก อาการเริ่มแรกพบแผลขนาดเล็กสีคล้ายฟางข้าวบนใบข้าวโพดต่อมาแผลจะขยายมีขนาดใหญ่ยาวตามใบข้าวโพดเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะพบอาการแผลบนใบข้าวโพดหลายแผลต่อใบและแผลขยายรวมกันมากๆ ทำให้ใบข้าวโพดแห้งตาย สามารถพบอาการของแผลได้บนกาบฝัก ข้าวโพดที่เป็นโรครุนแรงโดยเฉพาะเมื่อพบอาการบนกาบฝักจะทำให้ฝักไม่สมบูรณ์ (ชุติมันต์ และเตือนใจ, 2545; พีระวรรณและคณะ, 2549) การใช้สารเคมีเป็นวิธีการหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรค แต่ปัจจุบันสารเคมีชนิดเดิมที่ใช้อยู่ไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรค เนื่องจากเกษตรกรใช้สารเคมีในอัตราสูงและช่วงระยะเวลาไม่เหมาะสม ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคมีแนวโน้มต้านทานต่อสารเคมีมากขึ้น และต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาวิธีอื่นเพื่อป้องกันกำจัดโรคใบไหม้แผลใหญ่ได้แก่ การศึกษาการควบคุมโดยชีววิธี เพื่อให้ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้แผลใหญ่ ซึ่งจะเป็นการลดความเสียหายที่เกิดจากโรค ลดต้นทุนการผลิต ได้ผลผลิตข้าวโพดที่มีคุณภาพ มาตรฐาน สามารถแข่งขันได้ในตลาดโลก รวมทั้งปลอดภัยต่อเกษตรกร และสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรค กระดาษหนังสือพิมพ์ ถุงพลาสติก
2. กล้องจุลทรรศน์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

4 วัสดุอุปกรณ์ในแปลงทดลอง

วิธีการ

1 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

เก็บใบข้าวโพดที่เป็นโรค นำมาแยกเชื้อด้วยวิธี Tissue Transplanting โดยตัดใบที่เป็นแผลเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อก 10 เปอร์เซ็นต์แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงวางบนอาหารพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) ที่มีส่วนผสมของ $CaCO_3$ อัตรา 0.85 กรัมต่อลิตร (ดัดแปลงจาก Tzeng *et al.,* 1992) นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส หลังจากที่มีเชื้อเจริญออกมาจากขอบแผล ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้ายเชื้อเก็บรักษาในหลอดอาหารเพื่อเป็น stock culture

1.2 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากใบข้าวโพด

เก็บใบข้าวโพดจากต้นที่ไม่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่และจากต้นที่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ นำมาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวพืชโดยวิธี leaf wash technigue บนอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV เก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ไว้สำหรับทดสอบต่อไป

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการ

นำจุลินทรีย์ที่แยกได้ในข้อ 2 มาทดทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราอายุ 5 วัน ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำมาวางตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใช้ loop ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแบททีเรียทดสอบไอโซเลทต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร RNV อายุ 24 ชั่วโมง ลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อรา *E. turcic*um โดยขีดเชื้อจุลินทรีย์มีความยาว 1 ซม. จำนวน 4 จุด ตรงข้ามกันในแนวกากบาทให้ห่างจากเชื้อรา 4 ซม. วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในแต่ละไอโซเลทเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อราเพียงอย่างเดียว คัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *E. turcic*um โดยเลือกไอโซเลทที่มีระดับการยับยั้งตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เพื่อนำไปทดสอบในขั้นต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในแปลงทดลอง

2.1 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่และการปลูกเชื้อให้กับแถวแพร่เชื้อ

2.1.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

เก็บใบข้าวโพดที่เป็นโรค นำมาแยกเชื้อตามข้อ 1.1

2.2.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

2.2.2.1 นำเมล็ดของข้าวฟ่าง มาแช่น้ำนาน 18 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำที่แช่เมล็ด 3-4 ครั้ง เพื่อให้เมล็ดสะอาด หลังจากนั้นนำมาผึ่งให้สะเด็ดน้ำแล้วบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงพลาสติกทนความร้อน ปริมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 45 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้งในวันถัดมา

2.2.2.2 เขี่ยชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ลงไปในถุงข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเริ่มมีการเจริญของเส้นใยบนเมล็ดข้าวฟ่าง เขย่าถุงเพื่อให้เชื้อกระจาย ไม่เกาะเป็นก้อนแข็ง บ่มไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ออกมาผึ่งในที่ร่มให้ความชื้นลดลง

2.2.2.3 นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่มาบุบให้แตกเพื่อให้มีขนาดเล็กลงและมีความสม่ำเสมอ สามารถเก็บรักษาเชื้อที่เตรียมไว้นั้นในสภาพที่แห้งและเย็นได้นานหนึ่งเดือนก่อนนำไปปลูกเชื้อให้กับต้นข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง

2.2.3 การเตรียมแถวแพร่เชื้อ

ปลูกข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอ ไฮบริกซ์ 3 เป็นแถวสำหรับแพร่เชื้อ (spreader row) รอบนอกพื้นที่ทดลองในลักษณะตาราง โดยมีระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20 เซนติเมตร จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม จากนั้นจึงถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ย 16-20 -0 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก และใส่ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา เมื่อข้าวโพดอายุ 1 เดือน อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่

2.2.4 การปลูกเชื้อ

หลังจากที่ข้าวโพดในแถวแพร่เชื้องอกได้ 2 สัปดาห์ ปลูกเชื้อโดยการหยอดเมล็ดข้าวฟ่างที่มีสปอร์ของเชื้อลงในใบยอดของข้าวโพด แล้วพ่นน้ำตาม

2.2.5. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในแปลงทดลอง

2.2.5.1 ปลูกข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอแทรกลงในพื้นที่ว่าง หลังจากต้นข้าวโพดในแถวแพร่เชื้อมีอายุ 2 สัปดาห์ โดยใช้ระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20 เซนติเมตร ปลูกข้าวโพด 2 เมล็ดต่อหลุม หลังข้าวโพดงอกประมาณ 2 สัปดาห์ ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ โดยโรยก้นหลุมพร้อมปลูก เมื่อข้าวโพดอายุ 3 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ โรยข้างแถวข้าวโพดแล้วกลบดินให้มิด พ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชหลังปลูกด้วยอทราซีน อัตรา 200 กรัม/ไร่ และอลาคลอร์ อัตรา 300 ซีซี/ไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี

2.2.5.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *E. turcic*um จำนวน 5 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSB (Physic Soil Bloth) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น นำไปผสมน้ำกลั่นโดยใช้อัตราส่วน 1:2 พ่นบนต้นข้าวโพดทดสอบที่มีอายุ 2 สัปดาห์ ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

4. การประเมินระดับความรุนแรงโรคใบไหม้แผลใหญ่

เมื่อข้าวโพดเริ่มแสดงอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่(ข้าวโพดอายุ ประมาณ 1 เดือน) ประเมินโรคก่อนพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยให้ระดับความรุนแรง 1-5 ตามพื้นที่ใบที่ปรากฏแผล โดยสุ่มต้นข้าวโพดจำนวน 10 ต้น จาก 2 แถวกลาง ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่เกิดแผล

'' 2 = เกิดแผล ตั้งแต่ 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ

'' 3 = เกิดแผล ตั้งแต่ 26 - 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ

'' 4 = เกิดแผล ตั้งแต่ 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ

'' 5 = เกิดแผล ทุกใบ ตั้งแต่ 76 - 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ใบไหม้ ต้นแห้งตาย

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2550- กันยายน 2553

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่จากจังหวัดเชียงใหม่นำมาศึกษาบันทึกลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อบริสุทธิ์ ด้วยวิธี tissues transplanting method โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคขนาด 3 x 5 ซม. ฆ่าเชื้อภายนอกด้วยคลอร๊อกซ์ 10 % เป็นเวลา 2 – 4 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้งวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในสภาพปลอดเชื้อ บ่มเชื้อไว้นาน 2 - 3 วัน ทำ hyphal tip isolation นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เลี้ยงบนอาการเลี้ยงเชื้อ PDA ศึกษารูปร่าง และการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เขี่ยเชื้อทำสไลด์ตรวจดูลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าสามารถแยกได้เชื้อ *E. turcicum* ต่อจากนั้นพิสูจน์โรคโดยวิธีของ Koch (Kock ' s postulate) โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาปลูกบนต้นข้าวโพดแล้วแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง พบว่าเชื้อที่เจริญบนอาหารเหมือนเดิม คือเชื้อ *E. turcic*um

2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากใบข้าวโพด

จากการสุ่มเก็บใบข้าวโพดจากต้นที่ไม่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่และจากต้นที่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ นำมาแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวพืชโดยวิธี leaf wash technigue สามารถเก็บเชื้อจุลินทรีย์ได้ 25 isolate ได้แก่ บ้านแก่งเสี้ยน อ. เมือง อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี จำนวน 3 isolate จาก ต. ปากช่อง และ ต. ซับม่วง อ. ปากช่อง จ.นครราชสีมา จำนวน 4 isolate จาก จาก อ. ม่วงเหล็ก จ.นครราชสีมา จำนวน 2 isolate จาก อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี จำนวน 2 isolate อ. แม่ระมาด อ. แม่สอด จ.ตาก จำนวน 4 isolate จาก อ. วังม่วง จ. สระบุรี จำนวน 5 isolate จาก อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ จำนวน 3 isolate จาก อ. น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์ จำนวน 2 isolate นำจุลินทรีย์ที่แยกได้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *E. turcicum*

3. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้และเชื้อจุลินทรีย์จากหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์โรคพืชมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในปี พ.ศ. 2551 จำนวน 25 isolate พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 3 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน และในปี พ.ศ. 2552 ทดสอบจำนวน 31 isolate บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 22 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน

4. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um ในแปลงทดลอง

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *E. turcic*um ในห้องปฏิบัติการไปพ่นบนต้นข้าวโพดที่มีอายุ 2 สัปดาห์ เมื่อต้นข้าวโพดแสดงอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่ให้คะแนนการเกิดโรคพบว่าในการประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 1 ข้าวโพดอายุประมาณ 1 เดือน ก่อนพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 3 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคบนใบข้าวโพดไม่แตกต่างกันโดยมีความรุนแรงโรคระหว่าง 1.15-2.30 (ตารางที่ 3)

ประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 2 ก่อนพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 4 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ isolate ที่ 14, 16, 22 และ 26 มีความรุนแรงโรค 1.15, 1.23, 1.23 และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าที่มีความรุนแรงโรค 1.78 เปอรเซ็นต์ซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์isolate ที่ 27 ที่มีความรุนแรงโรค 1.33 เปอร์เซ็นต์

ประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 3 ก่อนพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 5 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ isolate ที่ 14, 16 และ 26 มีความรุนแรงโรค 3.00, 3.20 และ 3.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ที่มีความรุนแรงโรค 4.93 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่

พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ isolate ที่ 22 และ 27 มีความรุนแรงโรค 4.05 และ 4.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

ประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 4 หลังพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 5 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ isolate ทั้ง 5 isolate ได้แก่ isolate 14, 16, 22, 26 และ 27 มีความรุนแรงโรค 12.40, 12.18, 12.03 10.88 และ 11.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับไม่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า ที่มีความรุนแรงโรค 11.46 เปอร์เซ็นต์

ในการประเมินโรคครั้งที่ 1 หลังจากมีการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปแล้ว 2 ครั้ง พบว่า ข้าวโพดในทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคไม่แตกต่างกันทั้งนี้อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมยังไม่เหมาะสมต่อการระบาดของโรค และข้าวโพดอายุยังน้อยเนื่องจากโรคใบไหม้แผลใหญ่มักเริ่มพบเมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 45 วัน หรือก่อนข้าวโพดออกดอก (ชุติมันต์ และเตือนใจ, 2545; พีระวรรณและคณะ, 2549) ในการประเมินโรคครั้งที่ 2 พบว่าข้าวโพดมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเกิดโรคในการประเมินครั้งที่ 1 โรคใบไหม้แผลใหญ่จะพบบนใบล่างของต้นข้าวโพดซึ่งในการประเมินครั้งที่ 2 ใบล่างของข้าวโพดจะแห้งตายทำให้ไม่สามารถประเมินได้ ในการประเมินโรคครั้งที่ 3 พบข้าวโพดมีความรุนแรงมากขึ้นทั้งนี้อาจเป็นเพราะช่วงอายุของข้าวโพดและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แต่ในการประเมินโรคครั้งที่ 4 พบว่าการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่มีความแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีฝนตกหนักและบ่อยครั้งซึ่งอาจชะเอาจุลินทรีย์ออกไป แต่เมื่อพิจารณาดูเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคพบว่า จุลินทรีย์ isolate ที่ 26 มีแนวโน้มในการป้องกันโรคใบไหม้แผลใหญ่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าโดยมีความรุนแรงโรค 10.88 และ 11.48 ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ควรจะมีการทดลองซ้ำโดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์พ่นร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและเนื่องจากในการทดลองครั้งนี้มีการระบาดของโรคราน้ำค้างข้าวโพดรุนแรง จึงมีจำนวนต้นข้าวโพดที่ใช้สุ่มเก็บข้อมูลน้อยลง และเมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 50 วันจนถึงเก็บเกี่ยวมีฝนตกหนักและบ่อยครั้งทำให้การทดลองครั้งนี้ไม่สามารถเสนอผลการประเมินโรคก่อนเก็บเกี่ยวและผลผลิตได้เนื่องจากต้นข้าวโพดล้มจากลมพายุ ทำให้ใบข้าวโพดบางส่วนจมดิน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่มาทำการแยกเชื้อและศึกษาเชื้อที่แยกได้พบว่าคือเชื้อ *E. turcic*um นำเชื้อที่แยกได้จากใบข้าวโพดที่บริเวณผิวพืชโดยวิธี leaf wash technigue และเชื้อจุลินทรีย์จากหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์โรคพืชมาทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในปี พ.ศ. 2551 จำนวน 25 isolate พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 3 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน และในปี พ.ศ. 2552 ทดสอบจำนวน 31 isolate พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 22 ไอโซเลท แสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *E. turcic*um

หลังการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 7 วัน คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *E. turcic*um มากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลอง พบว่ากรรมวิธีการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่มีความแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า แต่มีจุลินทรีย์ จำนวน 1 isolate มีแนวโน้มในการยับยั้งโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดได้

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 105 หน้า.

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และเตือนใจ บุญ-หลง. 2545. โรคข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.69 หน้า.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2549. การจัดทำบัญชีรายชื่อโรคและเชื้อสาเหตุโรคของข้าวโพดเพื่อการนำเข้า. *ใน* : เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 2. วันที่ 9-11 มีนาคม 2549. ณ สีดารีสอร์ท อ.เมือง จ. นครนายก.

สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5. 2549. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการ ระบบการส่งเสริมและวิเคราะห์ปัญหาในการผลิตข้าวโพดหวานเพื่ออุตสาหกรรม. วันที่ 1-3 มีนาคม 2549. ณ โรงแรมมนตรี จ.ชัยนาท.

Tzeng, T.F., L.K. Lyngholm, C.F. Ford and C.R. Bronson. 1992. A RFLP maps and electrophoretic karyotype of the fungal maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus*. Genetics 130: 81-92.

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปี พ.ศ. 2551

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรค[1]	ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[2]
1	2.3	67.32
2	2.92	58.52
3	2.92	58.52
4	2.08	70.45
5	1.42	79.82
6	1.9	73.01
7	1.92	72.72
8	2.5	64.48
9	2.04	71.02
10	2.64	62.5
11	2.94	58
12	2.38	67.6
13	3.3	46.87
14	2.18	69.03
15	3.3	46.87
16	4.26	39.48
17	3.42	51.42

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรค[1]	ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[2]
18	4.12	41.47
19	4.42	37.21
20	3.56	49.43
21	3.54	49.71
22	3.5	50.28
23	3.12	55.68
24	2.96	57.95
25	2.8	60.22
26	2.48	64.77
27	2.04	71.02
28	3.02	57.1
29	2.36	66.47
30	3.2	54.54
31	3.0	57.38
32	2.78	60.51
33	2.96	57.95
34	2.46	65.05
35	3.02	57.1
control	7.04	

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *E. turcic*um บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปี พ.ศ. 2552

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรค[1]	ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[2]
1	1.78	80.22
2	3.9	56.66
3	1.68	81.33
4	3.2	64.44
5	3.95	56.11
6	1.51	83.22
7	2.56	82.66
8	1.60	82.22
9	3.85	57.22
10	1.58	82.44
11	8.5	5.55
12	6.10	32.22
13	1.53	83.33
14	1.31	85.44
15	7.08	21.33
16	1.26	86.00

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรค[1]	ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[2]
17	1.85	79.44
18	1.53	83.00
19	1.50	83.33
20	1.78	80.22
21	1.41	84.33
22	1.35	85.00
23	1.80	80.00
24	1.56	82.66
25	7.16	20.44
26	1.01	88.77
27	1.31	85.44
28	1.36	84.88
29	2.88	68.00
30	1.36	84.88
31	1.41	84.33
control	9	

หมายเหตุ 1= ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรคทั้งหมด 5 ซ้ำ

2= (100-ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา *E. turcic*um ในกรรมวิธีเชื้อทดสอบ)
x100/ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา *E. turcic*um ในกรรมวิธี
เปรียบเทียบ

ตารางที่ 3 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. turcic*um

กรรมวิธี	ความรุนแรงโรค(%)[1/]			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4
1. จุลินทรีย์ isolate ที่ 14	2.30a[2/]	1.15a	3.00a	12.40a
2. จุลินทรีย์ isolate ที่ 16	2.25a	1.23a	3.20a	12.18a
3. จุลินทรีย์ isolate ที่ 22	1.68a	1.23a	4.05abc	12.03a
4. จุลินทรีย์ isolate ที่ 26	1.80a	0.85a	3.43ab	10.88a
5. จุลินทรีย์ isolate ที่ 27	1.75a	1.33ab	4.58bc	11.20a
6. control	2.15a	1.78b	4.93c	11.48a
CV	40.2%	26.5%	21.8%	19.3%

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยความรุนแรงโรคจากการประเมินโรคจำนวน 10 ต้น/ซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ Duncan”s multiple range test