

การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุม  
โรคเหี่ยวเฉียวของมันฝรั่งในระดับเกษตรกร

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

บุรณี พัววงศ์แพทย์<sup>1/</sup> ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล<sup>1/</sup> ทิพวรรณ กันหาญาติ<sup>1/</sup>  
รุ่งนภา ทองเครื่อง<sup>1/</sup> วิวัฒน์ ภาณุอำไพ<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup>กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<sup>2/</sup>ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเฉียวของมันฝรั่งที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แบบผง ในสภาพแปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แบบผงต่างกัน คือ กรรมวิธีที่ 1 รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน กรรมวิธีที่ 2 รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน กรรมวิธีที่ 3 รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน โดยคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 % โดยน้ำหนักในทุกกรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง พบว่ากรรมวิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 มีการเกิดโรคเหี่ยว 43.1, 19.7, 14.1 และ 45.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่มีการเกิดโรคเหี่ยวเท่ากับ 76.1 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้มันฝรั่งในแปลงทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งไม่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง และกรรมวิธีที่สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด คือกรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

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 ในประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้นี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น การป้องกันกำจัดโรคนี้นี้ทำได้ยากเนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเกษตรกรรม และการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง และเป็นที่ยอมรับอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้อง และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรีย จนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลายเช่น รา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นต้น

แบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ มีอยู่มากมายทั้งในดินตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย และเจริญได้รวดเร็วที่บริเวณรากพืช นอกจากนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* ยังมีความสามารถในการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) (Baker and Cook, 1974) มีรายงานการใช้แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ Celino and Gottlieb (1952) ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* B<sub>3</sub> 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. aeruginosa* และ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าแบคทีเรีย *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* เมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของต้นมะเขือเทศที่เจริญเติบโตในดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดี Sanaina et al. (1997) ศึกษาแบคทีเรียจากบริเวณรากของต้นมันฝรั่งโดยแยกแบคทีเรียจากรากของต้นปกติและรากของต้นที่เป็นโรค นำมาคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *B. subtilis* และ *Enterobacter cloacae* 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 มีผลผลิตเพิ่มขึ้น

ถึง 160% Guo *et al.* (2002) รายงานการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี โดยใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่แบคทีเรียกลุ่ม *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 ญงฐิมา และคณะ (2551) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวในแปลงมันฝรั่งของเกษตรกร เพื่อป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ได้

### วิธีดำเนินการ

#### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้แช่เยื่อชนิดปลอดเชื้อ 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 จึงผสมกับสารตัวพองแป้งทัลคัม (Talcum) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติก ก่อนนำไปใช้ทดสอบในแปลงต่อไป (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. ทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิชีวนะ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

**การเตรียมแปลงทดลอง** เตรียมแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ โดยอบดินด้วยยูเรียผสมกับปูนขาวอัตรา 80 ต่อ 800 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1 ไร่ เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในดิน หลังจากอบดิน 3 สัปดาห์ จึงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่าเสมอ โดยปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวลงในแปลงทดลอง 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* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองต่อไป

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 1 % โดยน้ำหนัก (10 กรัม : มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) จากนั้นรดด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 1 % โดยน้ำหนัก (10 กรัม : มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) จากนั้นรดด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 1 % โดยน้ำหนัก (10 กรัม : มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) จากนั้นรดด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 1 % โดยน้ำหนัก (10 กรัม : มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) จากนั้นใส่ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง

### การตรวจผลการทดลอง

1. ตรวจสอบปริมาณเชื้อปฏิชีวนะ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 ในแปลงปลูกโดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
2. ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงปลูก โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
3. ตรวจสอบบันทึกที่แสดงอาการของโรคทุกเดือน

### ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2557

## สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา 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 % และ สารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่ผลิตได้ โดยนำส่วนผสมผงสำเร็จแบคทีเรีย 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เตรียมจากอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) คือ  $3.2 \times 10^{10}$  หน่วยโคโลนี/กรัม

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

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มปลูกมันฝรั่งในวันที่ 26 พฤศจิกายน 2556 ตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ และทำการตรวจสอบจำนวนต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยวทุก 2 สัปดาห์ พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ดีที่สุด มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 14.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม ที่เป็นโรคเหี่ยว 19.7, 43.1 และ 45.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงมีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง ซึ่งเป็นโรคเหี่ยว 76.1 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ  $1.3 \times 10^2$ ,  $3.2 \times 10^3$  และ  $5.4 \times 10^3$  หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ  $6.2 \times 10^2$ ,  $7.3 \times 10^3$  และ  $2.7 \times 10^4$  หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ  $1.8 \times 10^3$ ,  $2.4 \times 10^5$  และ  $6.4 \times 10^5$  ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ  $4.2 \times 10^2$ ,  $5.6 \times 10^3$  และ  $8.3 \times 10^3$  ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ  $2.9 \times 10^5$ ,  $3.3 \times 10^3$  และ  $5.1 \times 10^3$  หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ  $2.6 \times 10^5$ ,  $5.2 \times 10^3$  และ  $4.7 \times 10^3$  หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ  $5.4 \times 10^5$ ,  $4.8 \times 10^3$  และ  $2.4 \times 10^2$  ตามลำดับ กรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ  $3.4 \times 10^5$ ,  $2.5 \times 10^4$  และ  $7.4 \times 10^3$  ตามลำดับ ส่วนกรรมกรรมวิธีที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ  $5.5 \times 10^5$ ,  $4.2 \times 10^5$  และ  $7.5 \times 10^5$  ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิบั๊กซ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 และแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แบบผง ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง คือ กรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง ทั้ง 4 กรรมวิธี มีปริมาณแบคทีเรียปฏิบั๊กซ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แตกต่างกัน คือ กรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิบั๊กซ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 มากที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวน้อยที่สุด ส่วนกรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิบั๊กซ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 ใกล้เคียงกับ กรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีก็มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวใกล้เคียงกันด้วย และทั้ง 4 กรรมวิธีมีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของทั้ง 4 กรรมวิธีต่ำกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากลยาสูบ no.4 แบบผง ที่มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* คงที่ไม่ลดลง

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

กรรมวิธี	การเกิดโรคเหี่ยว (เปอร์เซ็นต์)
1. คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	43.1c <sup>1/</sup>
2. คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	19.7b
3. คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	14.1a
4. คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+ใส่ผงเชื้อ 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน	45.2c
5. ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)	76.1d
CV (%)	16.35

<sup>1/</sup> ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ประชากรของแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ *B. subtilis* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรกายาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณแบคทีเรียปฏิบั๊กษ์ <i>B. subtilis</i> (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	$1.3 \times 10^2$	$3.2 \times 10^3$	$5.4 \times 10^3$
2. กรรมวิธีที่ 2	$6.2 \times 10^2$	$7.3 \times 10^3$	$2.7 \times 10^4$
3. กรรมวิธีที่ 3	$1.8 \times 10^3$	$2.4 \times 10^5$	$6.4 \times 10^5$
4. กรรมวิธีที่ 4	$4.2 \times 10^2$	$5.6 \times 10^3$	$8.3 \times 10^3$

กรรมวิธีที่ 1 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 2 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 4 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+ใส่ผงเชื้อ 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน

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

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของแบคทีเรีย <i>R. solanacearum</i> (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	$2.9 \times 10^5$	$3.3 \times 10^3$	$5.1 \times 10^3$
2. กรรมวิธีที่ 2	$2.6 \times 10^5$	$5.2 \times 10^3$	$4.7 \times 10^3$
3. กรรมวิธีที่ 3	$5.4 \times 10^5$	$4.8 \times 10^3$	$2.4 \times 10^2$
4. กรรมวิธีที่ 4	$3.4 \times 10^5$	$2.5 \times 10^4$	$7.4 \times 10^3$
5. กรรมวิธีที่ 5	$5.5 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$	$7.5 \times 10^5$

กรรมวิธีที่ 1 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 2 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 4 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+ใส่ผงเชื้อ 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน  
 กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)

#### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรกายาสูบ no.4 แบบผงในสภาพแปลงทดลอง พบว่ากรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 43.1 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 19.7

เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 14.1 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 45.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 4 กรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผงที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวเท่ากับ 76.1 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้มันฝรั่งในแปลงทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรakyatasub no.4 แบบผง

### เอกสารอ้างอิง

- ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี จิตติเกียรติพงษ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบบคทีเรีย *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 2<sup>nd</sup> 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 2<sup>nd</sup> 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. Phytopathology 76: 423-430.