

CMS 1- 2 + LPS 3-2 had highly efficacy to control the bacterial wilt disease of Phlai. In field trial, all antagonistic bacteria gave low efficacies to control bacterial wilt of Phlai.

รหัสการทดลอง : 01-31-54-01-01-00-04-55

Keywords: Bacterial wilt, biological control, antagonistic organisms

6. คำนำ

โรคเหี่ยว (Bacterial wilt) ของไหลเกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นปัญหาที่สำคัญในการผลิตไหล เนื่องจากพบการระบาดทำความเสียหายทั่วไปในแหล่งปลูกไหลของประเทศไทย บางแห่งเป็นโรครุนแรงจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ นอกจากไหลแล้วยังพบโรคเหี่ยวทำลายพืชเศรษฐกิจและวัชพืชหลายชนิด เช่น พริก มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ชิง พริกไทย ถั่วลิสง ต้นสัก มะกอก หม่อน มันสำปะหลัง งามา หงส์เหิน กระเจียวสีส้ม ต้อยติ่ง หล้าวงช้าง สาบเสือ สาบแร้งสาบกา ลำโพง กะเม็ง ปัจจุบันยังไม่พบรายงานวิธีการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของไหลที่มีประสิทธิภาพ การปลูกพืชหมุนเวียนและใช้สารเคมีควบคุมโรคกระทำได้น้อยและไม่ค่อยได้ผลดีเท่าที่ควรเพราะแบคทีเรียสาเหตุโรคมีพืชอาศัยกว้าง สามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้นาน ค่อนข้างต้านทานสารเคมีและปฏิชีวนะหลายชนิด แนวทางการควบคุมโรคให้ประสบความสำเร็จต้องผสมผสานวิธีการเกษตรกรรม การใช้พันธุ์จากแหล่งปลอดโรค และการควบคุมโรคโดยวิธีชีวภาพหรือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่จำแนกได้จากดินแหล่งปลูกหรือดินบริเวณรอบรากพืช ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวหรือแง่งเนาของไหลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* (RS) ในห้องปฏิบัติการ โรงเรือน และแปลงทดลอง ซึ่งควรมีการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่รวบรวมได้ ทั้งในห้องปฏิบัติการ เรือนทดลอง จนกระทั่งในสภาพแปลงทดลองปลูกไหลของเกษตรกรเพื่อยืนยันผลในการควบคุมโรคดังกล่าวก่อนที่จะพัฒนาเป็นรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างสะดวกร่วมกับวิธีการอื่นอย่างเหมาะสม

7. วิธีดำเนินการ

-อุปกรณ์

ตู้เขย่าเชื้อ หมอนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ เครื่องเขย่า (Rotary shaker) หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อ และเครื่องแก้วอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ แ่งพันธุ์ไหล เชื้อแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยวของไหล เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่จำแนกจากตัวอย่างดินปลูกไหล และปุ๋ยคอกจากแหล่งต่างๆ ผงเชื้อบาซิลลัส, แ่งพันธุ์ไหล ปลอดเชื้อโรคเหี่ยว, ปุ๋ยหมัก, ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 46-0-0, ฟางข้าว, ป้ายแปลง, ถังพลาสติก, กระบอกพ่นน้ำ, ถุงเพาะชำ วัสดุปลูก ระบบให้น้ำ อุปกรณ์ที่ใช้ในเรือนทดลองและแปลงทดลอง

-วิธีการ แบ่งเป็น 3 การทดลองย่อยได้แก่

(1) คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไหลในห้องปฏิบัติการ

1.1 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากไหล โดยเก็บตัวอย่าง ต้นไหล แ่งไหล และดินบริเวณรอบราก (rhizosphere) จากแหล่งปลูกต่างๆ

1.2 แยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างข้อ 1.1 โดยวิธี Dilution spread plate บนอาหาร TSA และ King's medium B เก็บเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ โดยให้รหัสเป็นตัวเลขและบันทึกข้อมูลแหล่งที่มาของเชื้อที่แยกได้

1.3 ย้อมเซลล์แบคทีเรียที่แยกได้ คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกที่เป็นเชื้อสกุล *Bacillus* ไว้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* (RS) บนอาหาร NGA (Nutrient glucose agar) ใช้วิธี paper disc diffusion โดยผสมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ RS อาหาร NGA โดยใช้ เซลล์แขวนลอยความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเติมลงในอาหารเหลวปริมาณ 200 มิลลิลิตร อุณหภูมิประมาณ 40°C ผสมให้เข้ากัน แล้วเททับบนอาหาร NGA ที่เทรองพื้นไว้บ้างๆ และทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมงให้หน้าอาหารแห้ง

1.4 วางกระดาษตาปลาที่หยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อปฏิปักษ์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร วางกระดาษตาปลา 4 จุดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางกระดาษตาปลาที่หยดน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นการทดลองควบคุม บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 29°C ตรวจสอบผลการทดลองที่ 24, 48, 72 ชั่วโมง และ 7 วัน

1.5 บันทึกขนาดความกว้างของ clear zone ที่เกิดขึ้น คัดเลือกเชื้อที่ก่อให้เกิด clear zone กว้างที่สุด จำนวน 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

(2) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คัดเลือกในการควบคุมโรคเหี่ยวของโพลในสภาพเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ประกอบด้วย 10 กรรมวิธีได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2

กรรมวิธีที่ 2 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2

กรรมวิธีที่ 3 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 4 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 + LPS 3-2

กรรมวิธีที่ 5 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 + LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 7 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 + LPS 3-2 + LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 8 ใช้แบคทีเรีย ดินรกายาสูบ # 4

กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุม (-เชื้อโรคเหี่ยว) วัสดุปลูกปลอดเชื้อโรค

กรรมวิธีที่ 10 กรรมวิธีควบคุม (+เชื้อโรคเหี่ยว)

2.1 เตรียมวัสดุปลูกที่มีเชื้อ RS โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Nutrient Glucose Broth (NGB) อายุ 48 ชั่วโมงนำมาทำเป็นเซลล์แขวนลอยในน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้มีปริมาณเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร แล้วนำไปผสมกับวัสดุปลูกที่หนึ่งฆ่าเชื้อเตรียมไว้แล้ว โดยใช้ดิน 4 กิโลกรัม ผสมกับเซลล์แขวนลอยของเชื้อ RS 100 มิลลิลิตร/กระถาง

2.2 ชูบแ่งโพลที่ใช้ปลูกด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยใช้เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีระดับความเข้มข้น 10^8 - 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ตามกรรมวิธี ก่อนปลูกลงในกระถางทดลอง ดูแลรักษาให้เจริญเติบโต

2.3 ราวโคนต้นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิสัมพันธ์ตามกรรมวิธีทุก 14 วัน หลังจากต้นไพลงอก ตรวจสอบการเกิดโรคของพืช และเก็บดินในกระถางตรวจหาปริมาณเชื้อทั้งสองชนิดเป็นระยะเวลา 6 เดือน

2.4 แยกเชื้อจากดินโดยวิธี soil dilution spread plate บนอาหาร Nutrient Agar (NA) และ Kelman's TZC Agar หรือ TZC (Kelman,1954) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 29°C เป็นเวลา 4-5 วัน และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิสัมพันธ์และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยว

(3) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในแปลงทดลอง โดยเลือกใช้แปลงทดลองซึ่งพบโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียระบาด ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 2 ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส CMS 1-2 + LPS 3-2

กรรมวิธีที่ 3 ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส CMS 1-2 + LPS 3-2 + LPR 1-5

กรรมวิธีที่ 4 ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส ดินรakyat # 4 (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช)

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส)

3.1 ตรวจหาปริมาณของเชื้อ RS ในแปลงปลูกก่อนการทดลองโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุด นำมารวมกัน ชั่ง 10 กรัมผสมน้ำกลั่นหนึ่งขวดเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี Soil serials dilution บนอาหาร PSA บ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับปริมาณเชื้อบนอาหาร

3.2 เตรียมแปลงทดลอง ไกลพลิดินตากแดด 30 วัน หวานด้วยปุ๋ยขุขาว และไถพรวนเพื่อทำแปลงทดลองย่อยขนาด 1.5 x 5.0 เมตร รวม 20 แปลงย่อย ใช้ระยะปลูก 50 x 75 ซม. ปลูกแบบแถวคู่ จำนวน 20 หลุม/แปลง คลุกแ่งไพลก่อนปลูกด้วยผงเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสตามกรรมวิธี อัตรา 10 กรัม/1กิโลกรัม เมื่อต้นไพลงอกราดโคนต้นด้วยสารละลายของเชื้อบาซิลลัสทุก 20 วัน ตามกรรมวิธี ใช้ผงเชื้อบาซิลลัส อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

3.3 บันทึกผลการทดลองได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความออกของต้นกล้าไพล เก็บดินจากแปลงทดลองทุก 30 วัน เพื่อตรวจหาปริมาณเชื้อบาซิลลัสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA ส่วนเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวใช้อาหารจำเพาะ TZC Agar (Kelman,1954) ซึ่งสามารถจำแนกระหว่าง virulent colonies และ avirulent mutant บนอาหารชนิดนี้ได้ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรคแต่ละกรรมวิธีจนสิ้นฤดูปลูกของไพล บันทึกน้ำหนักและปริมาณของผลผลิตที่ได้แต่ละกรรมวิธี

3.4 รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผลการทดลอง

-เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2555 สิ้นสุด กันยายน 2557 (3 ปี)

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

(1) คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเหี่ยวของไหลในห้องปฏิบัติการ

-ผลสำรวจและเก็บรวบรวมดินจากแหล่งปลูกไหล รวมทั้งแงงไหล และปุ๋ยคอก ใน จ.เชียงราย เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และพะเยา สามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งหมดจำนวน 74 ตัวอย่าง แยกเชื้อจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ ตามวิธี soil dilution spread plate บนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจำนวน 323 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อในอาหาร NGA

-คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยให้รหัสชื่อเป็นตัวอักษรและตัวเลขตามแหล่งที่มาและชนิดของตัวอย่าง ย้อมสีเซลล์แบคทีเรียเพื่อจำแนกชนิดแบคทีเรียแกรมบวก หรือแกรมลบตามวิธีการ Bertholomov stain Technology ของ James W. (1962) ผลการย้อมสีพบว่าได้แบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด จำนวน 182 ไอโซเลท ซึ่งคาดว่าเป็นแบคทีเรีย *Bacillus* แกรมบวกย้อมติดสีม่วงเข้ม รูปร่างเป็นท่อนสั้น (rod shaped) หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ ส่วนแบคทีเรียที่เป็นแกรมลบเซลล์ย้อมติดสีแดงแบคทีเรีย เลือเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกที่ย้อมติดสีม่วง เก็บรักษาเชื้อไว้ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบในขั้นตอนต่อไป (ตารางที่ 1)

-ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 182 ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยวของไหล โดยวิธี paper disc diffusion ในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่ามีเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ซึ่งแสดงความเป็นปฏิชีวนะ สามารถเจริญเติบโตแข่งขันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ RS สาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA ได้ดีทั้งหมดจำนวน 17 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ CMS 1-2, LPS 3-2 และ LPR 1-5 ซึ่งวัดค่าเฉลี่ยความกว้างของ clear zone ได้เท่ากับ 1.80 และ 1.58 ซม.ตามลำดับ จึงคัดเลือกเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท ไปทดสอบต่อในเรือนทดลองและแปลงปลูกในปีถัดไป

ตารางที่ 1 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะจากแหล่งปลูกไหลในเขตภาคเหนือโดยวิธีการย้อมสีแกรม¹

แหล่งที่เก็บ ตัวอย่าง	ชนิด ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	รหัส	ไอโซเลท แบคทีเรีย	แกรมบวก	แกรมลบ
จ.เชียงราย	ดินปลูกพืช	28	CRS	109	68	41
	ปุ๋ยคอก	2	CRM	3	3	0
	รากพืช	9	CRR	32	11	21
จ.เชียงใหม่	ดินปลูกพืช	8	CMS	44	26	18
จ.ลำปาง	ดินปลูกไหล	5	LPS	27	18	9
	ปุ๋ยคอก	3	LPM	22	13	9

	รากพืช	5	LPR	27	11	16
จ.พะเยา	ดินปลูกพืช	3	PYS	12	8	4
	รากพืช	3	PYR	12	6	6
จ.แพร่	ดินปลูกพืช	4	PRS	19	10	9
	ปุ๋ยคอก	2	PRM	8	4	4
	รากพืช	2	PRR	8	4	4
	รวม	74		323	182	141

¹ การย้อมสีเซลล์แบคทีเรียใช้วิธีการ Bertholomov stain Technology ของ James W. (1962) แบคทีเรีย แกรมบวก (*Bacillus*) ย้อมติดสีม่วงเข้ม รูปร่างเป็นท่อนสั้น (rod shaped) หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ แบคทีเรียที่เป็นแกรมลบเซลล์ย้อมติดสีแดง

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ทดสอบโดยวิธี Paper disc diffusion บนอาหาร NGA

รหัสไอโซเลทของแบคทีเรีย ¹	ความกว้างของส่วนใส/ Clear zone เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ.ม.)	รหัสไอโซเลทของแบคทีเรีย	ความกว้างของส่วนใส/ Clear zone เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ.ม.)
CRS 8-6	1.25	LPR 1-5	1.58
CRS 10-3	1.35	LPR 4-3	1.25
CRM 2-3	1.40	LPR 5-2	1.48
CMS 1-2	1.80	PRM 2-1	1.20
CMS 3-2	1.35	PRM 2-2	1.25
CMS 5-1	1.48	PRR 1-3	1.20
CMS 5-3	1.23	PRR 1-4	1.23
LPS 3-2	1.58	PYR 3-2	1.53
LPM 1-6	1.28		

¹ รหัสของไอโซเลท ประกอบด้วยแหล่งของการเก็บตัวอย่าง ได้แก่

CRS = ดินปลูกไหลเชียงราย (Chiang-rai soil)

CRM = ปุ๋ยคอกเชียงราย (Chiang-rai manual)

CMS = ดินปลูกไหลเชียงใหม่ (Chiang-mai soil)

LPS = ดินปลูกไหลลำปาง (Lampang soil)

LPM = ปุ๋ยคอกลำปาง (Lampang manual)

LPR = รากของแง่งไหลจากลำปาง (Langpang rhizome)

PRM = ปุ๋ยคอกแพร่ (Phrae manual)

PRR = รากของแง่งไหลจากแพร่ (Phrae rhizome)

PYR = รากของแง่งไหลจากพะเยา (Phayao rhizome)

ตัวเลขหมายถึงลำดับตัวอย่างที่เก็บจากแต่ละแหล่งและไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากตัวอย่างดินปุ๋ยคอก หรือรากไหล

(2) ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเหี่ยวของโพลในเรือนทดลอง

เมื่อตรวจนับจำนวนต้นโพลที่งอกหลังปลูก 50 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 และกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งใช้แบคทีเรีย ไอโซเลท CMS 1-2 + LPS 3-2 มีเปอร์เซ็นต์ของต้นกล้าโพลงอกมากที่สุด 65% เท่ากัน รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 และกรรมวิธีที่ 8 ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย ดินรากยาสูบ # 4 (จาก culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช ซึ่งมีรายงานว่าควบคุมโรคของซิงได้ผลดี) นับเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าที่งอกได้เท่ากันคือ 45 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ 10 ซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุมพบว่า มีเปอร์เซ็นต์ต้นโพลงอกต่ำที่สุด 30 % เท่ากับกรรมวิธีที่ 5 ไอโซเลท CMS 1-2 + LPR 1-5 (ตารางที่3) อย่างไรก็ตามหลังจากโพลอายุได้ 6 เดือน ปรากฏว่า กรรมวิธีที่ 8 ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะดินรากยาสูบ # 4 ที่ผลิตในรูปแบบพร้อมใช้ให้ประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุด พบระดับการเกิดโรคเหี่ยวของโพล 2.50 ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น รองลงมาได้แก่ กรรมวิธี 4, กรรมวิธี 3, และกรรมวิธี 7 พบระดับโรคเหี่ยว 2.55 และ 2.60 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ปลูกเชื้อโรคเหี่ยว) พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิชีวนะกับเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของโพลได้เกือบทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 และกรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

ข้อจำกัดในการใช้เซลล์แขวนลอย (Cell suspension) ของเชื้อแบคทีเรีย Bacillus ที่เป็นปฏิชีวนะต่อเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว ซึ่งมีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) ชุบแฉ่งโพลก่อนปลูกและราดโคนต้นทุกเดือน เมื่อเทียบกับวิธีการใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย ดินรากยาสูบ # 4 ที่มีการพัฒนาจากเซลล์แขวนลอยผสมสารพาพวกผงทัลคัม (talcum) ให้นำไปใช้ได้สะดวก พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่า เนื่องจากข้อได้เปรียบของผงเชื้อที่ใช้ได้อย่างสะดวกรวดเร็วมีปริมาณเชื้อเข้มข้นสูง ในขณะที่เซลล์แขวนลอยของเชื้อสดต้องใช้ระยะเวลาในการเตรียมเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวก่อนที่จะนำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามความต้องการซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก ดังนั้นจึงควรพัฒนารูปแบบของแบคทีเรียปฏิชีวนะให้เป็นผงแฉ่งก่อนใช้เปรียบเทียบในระดับแปลงปลูกโพลทดลองต่อไป

ภาพที่ 1 การเตรียมวัสดุปลูกโพลผสมกับเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml

โดยปริมาตรของเชื้อแบคทีเรียใช้ผสมวัสดุปลูกที่อัตรา 10 % ของวัสดุปลูก



ภาพที่ 2 กลุ่มแ่งไพลในสารละลายแบคทีเรียบาซิลลัสตามกรรมวิธี ผึ่งให้แห้ง (ก) ก่อนปลูกลงในถาดขนาด 7x14 นิ้ว
 บรรจิวัดปลูกผสมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (ข-ค) และดูแลรักษาในโรงเรือนทดลอง (ง)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ตารางที่ 3 จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของต้นกล้าไพล หลังจากปลูกเป็นเวลา 50 วัน
 ในโรงเรือนทดลอง (จำนวน 5 ถาด ต่อซ้ำ)

กรรมวิธี	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	%ความ งอก
1	1	1	3	3	2.00	40
2	2	4	4	3	3.25	65
3	1	3	2	2	2.00	40
4	1	4	3	5	3.25	65
5	0	0	4	2	1.50	30
6	2	3	3	1	2.25	45
7	2	1	1	4	2.00	40
8	4	3	1	1	2.25	45
9	2	1	3	2	2.00	40

10	1	3	1	1	1.50	30
----	---	---	---	---	------	----

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์ต้นไพลรอดตายเฉลี่ย และระดับการเกิดโรคเหี่ยวของไพลในเรือนทดลองภายหลังจากปลูกเป็นเวลา 6 เดือน

กรรมวิธี	%ต้นไพลรอดตาย ¹	ระดับการเกิดโรคเหี่ยว ²
1 CMS 1-2	95	2.90 bc
2 LPS 3-2	95	2.70 b
3 LPR 1-5	100	2.60 b
4 CMS 1-2 + LPS 3-2	100	2.55 b
5 CMS 1-2 + LPR 1-5	85	2.65 b
6 LPS 3-2 + LPR 1-5	90	2.85 bc
7 CMS 1-2 + LPS 3-2 + LPR 1-5	90	2.60 b
8 Bacillus ดินรอกยาสูบ # 4	100	2.50 b
9 control (-RS)	100	1.05 a
10 control (+RS)	85	3.20 c
% CV		11.7%

1= % ต้นไพลที่เจริญเติบโตหลังจากปลูกในดินที่มีเชื้อโรคเหี่ยวเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 5 ถุง

2= ระดับการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ แบ่งเป็น 5 ระดับได้แก่

ระดับ 1 - ต้นพืชทดสอบปกติไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 2 - ต้นพืชทดสอบแสดงอาการใบเหี่ยวหรือเหลือง 1/3 ของต้น

ระดับ 3 - ต้นพืชทดสอบแสดงอาการใบเหี่ยวหรือเหลือง 1/3-2/3 ของต้น

ระดับ 4 - ต้นพืชทดสอบแสดงอาการใบเหี่ยวหรือเหลืองทั้งต้นยกเว้นยอด

ระดับ 5 – ต้นพืชทดสอบเหี่ยวตาย

(3) ผลทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการควบคุมโรคเหี่ยวของไหลในแปลงทดลอง

ตรวจนับจำนวนต้นไหลที่งอกหลังจากปลูก 50 วัน พบกรรมวิธีที่ 3 ใช้ผงเชื้อบาซิลลัส CMS 1-2 + LPS 3-2 +LPR 1-5 ต้นไหลมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุดเท่ากับ 81.2 % รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 และ 5 ไพลมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากันคือ 78.7% (ตารางที่ 5) ผลการเกิดโรค และระดับความรุนแรงของโรค หรือดัชนีการเกิดโรคเหี่ยว (Disease index) ตามวิธีการของ Winstead & Kelman (1952) ในเดือน เม.ย. ปรากฏว่ากรรมวิธีที่ 3 ไพลเกิดโรคเฉลี่ย 18.7% น้อยกว่ากรรมวิธีอื่นซึ่งพบโรคเหี่ยวเฉลี่ยระหว่าง 21.2-27.5% เมื่อพิจารณาจำนวนประชากรเชื้อโรคเหี่ยว RS จะเห็นว่าเพิ่มขึ้นจากก่อนปลูกไหลเล็กน้อยคือ $1.42-2.64 \times 10^4$ cfu/g ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรีย Bacillus ใกล้เคียงกันในทุกกรรมวิธีที่มีปริมาณ $5.97-7.0 \times 10^4$ cfu/g เนื่องจากเป็นช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโตของไหล (ตารางที่ 6-7)

เมื่ออายุได้ 90 วัน พบต้นไหลแสดงอาการโรคเหี่ยวเพิ่มมากขึ้นในเดือน พ.ค. โดยทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 42.0-45.0% ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเชื้อโรค RS ที่เพิ่มขึ้นเป็น $9.04 \times 10^4 - 1.78 \times 10^5$ cfu/g แต่เชื้อแบคทีเรีย Bacillus ก็มีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นกัน ($6.25-9.75 \times 10^4$ cfu/g)

เดือน มิ.ย. สภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการพัฒนาของโรคเหี่ยว เนื่องจากความชื้นสูง ฝนตกมากทำให้โรคระบาดอย่างรวดเร็วและรุนแรง ประกอบกับแปลงทดลองนี้เป็นแหล่งระบาดของโรคเหี่ยวมาก่อน อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีที่พบโรคเหี่ยวน้อย แสดงว่ามีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีคือ กรรมวิธีที่ 1 ใช้บาซิลลัส LPR 1-5 มีดัชนีการเกิดโรค 69.2 % รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 ใช้บาซิลลัสดินรกายาสูบ # 4 เกิดโรค 71.5 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ 3 ใช้บาซิลลัส 3 โอโซเลทผสมกัน กลับพบว่ามีดัชนีการเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 6) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการแข่งขันกันระหว่างแบคทีเรียปฏิชีวนะทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งโรคลดลงได้ ดังนั้นการใช้บาซิลลัสเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวควรเลือกใช้เฉพาะโอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่าประสิทธิภาพดีเพียงโอโซเลทเดียว สำหรับจำนวนประชากรของเชื้อ RS มีปริมาณใกล้เคียงกับเดือน พ.ค. ในขณะที่ปริมาณของเชื้อ Bacillus เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น $1.33-1.82 \times 10^5$ cfu/g

เดือน ก.ค. ต้นไหลในแปลงทดลองแสดงอาการของโรคเหี่ยวเพิ่มมากขึ้นทุกกรรมวิธี แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สามารถวัดค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้สูงมากระหว่าง 92.5-96.7% โดยกรรมวิธีที่ 1 ใช้บาซิลลัส LPR 1-5 ยังมีดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ตรวจนับเชื้อ RS มีปริมาณเฉลี่ยสูงสุดในกรรมวิธีที่ 3 เท่ากับ 2.12×10^5 cfu/g รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 5 control เท่ากับ 2.02×10^5 cfu/g ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีที่ 1, 2, และ 4 ที่มีค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ RS เท่ากับ 1.68, 1.69, และ 1.77×10^5 cfu/g ตามลำดับ ส่วนเชื้อ Bacillus มีปริมาณที่ค่อนข้างใกล้เคียงกันคือ $1.93-2.06 \times 10^5$ cfu/g (ตารางที่ 6-7) อย่างไรก็ตามหลังจากวันที่ 21 ก.ค. 2557 ปรากฏว่า ต้นไหลในแปลงทดลองเป็นโรคเหี่ยวตายทุก

กรรมวิธี จนกระทั่งไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวจากห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของไหลในแปลงปลูกได้ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการของโรคเหี่ยว ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับภาณุจนาและนุชนารถ (2542) รายงานว่า การใช้เชื้อแบคทีเรียปรักษ์ *B. cereus*, *P. aeruginosa* และ *P. putida* ควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในแปลงปลูกได้ผลไม่ชัดเจน และมีประสิทธิภาพในการควบคุมอยู่ในระดับต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบในเรือนกระจก

สาเหตุอีกประการหนึ่งคือ แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายมีประวัติโรคเหี่ยวระบาดอย่างรุนแรงมาก่อนทำให้ไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ทัน นอกจากนี้พบว่าปริมาณเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเริ่มต้นในแปลงทดลองก่อนการปลูกไหล ค่อนข้างสูงถึง 1.33×10^4 cfu/g และในเดือน ส.ค. ซึ่งเป็นเดือนสุดท้ายที่ทำการเก็บตัวอย่างดินตรวจนับประชากรเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเฉลี่ย พบว่ายังคงอยู่ที่ระดับ $5.50-6.70 \times 10^4$ cfu/g (ตารางที่ 7)

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เชื้อจุลินทรีย์แยกได้จากตัวอย่างดิน แ่งไหลและปุ๋ยคอก จำแนกได้เป็นแกรมบวก (แบคทีเรีย *Bacillus*) 182 ไอโซเลท ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยวได้ดีจำนวน 17 ไอโซเลท โดยเชื้อมีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ CMS 1-2, LPS 3-2 และ LPR 1-5

ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคในเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ 8 ผงเชื้อแบคทีเรียดินรากยาสูบ# 4 ให้ผลควบคุมโรคได้ดีที่สุด ระดับการเกิดโรคโรครุคเหี่ยวต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น รองมาได้แก่กรรมวิธี 4 CMS 1-2+ LPS 3-2 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (+เชื้อโรคเหี่ยว) พบว่าการใช้แบคทีเรียบาซิลลัส สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของไหลได้เกือบทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 และกรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปรักษ์เพื่อควบคุมโรคในแปลงปลูก พบช่วงแรกมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคอยู่ในระดับต่ำ ต่อมาเมื่อมีโรคเหี่ยวระบาดอย่างรวดเร็วในฤดูฝน ทำให้ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของไหลในแปลงปลูกได้ทัน ดังนั้นการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียให้ได้ผลดีจำเป็นต้องผสมผสานหลายวิธีการเข้าด้วยกัน เช่น การใช้แบคทีเรียบาซิลลัส การเขตกรรม การจัดการดินในแปลงปลูกร่วมกัน

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

กลุ่มเป้าหมายคือเกษตรกรผู้ผลิตไหลเชิงพาณิชย์ นักวิชาการ นักศึกษาและผู้สนใจทั่วไป

11. คำขอบคุณ(ถ้ามี)

12.เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา วิชิตตระกูลถาวร และนุชนารถ จงเลขา. 2542. การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยใช้แบคทีเรียปรักซ์. ใน:รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4, 25-27 ต.ค. 2542 โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตีจอมเทียน ชลบุรี.
- ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล วนิดา ฐิตะฐาน และรุ่งนภา คงสุวรรณ. 2542. โรคเหี่ยวของปทุมมา; ศึกษาสาเหตุและการควบคุมโรค. หน้า 59-76. ใน : วารสารโรคพืช ปีที่ 14-15 ฉบับที่ 1-2.
- นิยมรัฐ ไตรศรี ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และวิภาดา ทองทักษิณ. 2544. การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาโดยวิธีการจัดการดิน. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2544. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 23 หน้า.
- อภิญา สุราวุธ. 2551. ไซล : ปัญหาการผลิตในภาคใต้. จดหมายข่าวผลิใบ ก.ค. 2551, 11(6) หน้า 9-10.
- Kelman, A.1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonad solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 64:693-695.
- Winstead NN, Kelman A. 1952. Inoculation techniques for evaluation resistance to - *Pseudomonad solanacearum*. *Phytopathology* 42:628-634.

ภาพที่ 3 เตรียมแ่งพันธุ์โพลขนาด 50 กรัม ตัดแบ่งโดยใช้มีดจุ่ม Clorox 10% และแช่แ่งพันธุ์ในสารป้องกันกำจัดเชื้อรา (ก) คลุกด้วยผงเชื้อบาซิลลัสที่อัตรา 10 กรัม/แ่งพันธุ์ 1 กิโลกรัม ตามกรรมวิธี ก่อนปลูกในแปลงทดลอง (ข)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4 เตรียมแปลงทดลองปลูกโพลขนาดแปลงย่อย 1.5 x 5.0 เมตร โรยปุ๋ยหมักรองก้นหลุมก่อนปลูก (ก) และปลูกโพลที่คลุกผงเชื้อบาซิลลัสแล้ว จำนวน 20 แ่งพันธุ์/แปลงย่อย (ข)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 5 โพลเริ่มแสดงอาการเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ก) และต้นโพลที่เกิดโรคเหี่ยวอย่างความรุนแรงของโรคระดับ 4-5 (ข)



(ဂ)

(ဈ)

ตารางที่ 5 จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของต้นกล้าไพล หลังจากปลูกเป็นเวลา 50 วัน ในแปลงทดลอง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

กรรมวิธี	จำนวนต้นไพลที่งอก*	% ความงอก
T1 LPR 1-5	15.70	78.70
T2 CMS 1-2+LPS 3-2	14.50	72.50
T3 CMS 1-2+LPS 3-2+ LPR 1-5	16.20	81.20
T4 ดินรอกยาสูบ # 4	14.70	73.70
T5 Control	15.70	78.70

*ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ แปลงย่อยขนาด 1.5 x 5.0 เมตร ปลูกจำนวน 20 แง่งพันธุ์/แปลง

ตารางที่ 6 ผลการประเมินโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของไพล หลังจากใช้แบคทีเรียบาซิลลัสที่เป็นปฏิปักษ์ คลุกแ่งพันธุ์และผสมน้ำรดเพื่อควบคุมโรคในแปลงทดลองเป็นเวลา 4 เดือน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวของไพลในแปลงทดลอง (%) ¹			
	เม.ย	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
T1 LPR 1-5	21.2	45.0	69.2 a ²	92.5
T2 CMS 1-2+LPS 3-2	27.5	42.0	71.7 ab	95.0
T3 CMS 1-2+LPS 3-2+ LPR 1-5	18.7	43.7	75.5 b	95.0
T4 ดินรอกยาสูบ # 4	22.5	42.0	71.5 ab	94.5
T5 Control	21.2	44.0	71.7 ab	96.7
CV (%)	-	7.4	5.0	4.8

¹ ดัชนีการเกิดโรคเหี่ยว (Disease index) คำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\% \text{ ดัชนีการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคเหี่ยวแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้นที่สุ่มตรวจ} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}}$$

การแสดงออกของโรคเหี่ยวไพลแบ่งเป็น 5 ระดับประยุกต์ตามวิธีการของ Winstead & Kelman (1952) ได้แก่

1= พืชปกติไม่แสดงอาการเหี่ยว

2= ใบทั้งต้นมีอาการเหี่ยว 1/3

3= ใบมีอาการเหี่ยวมากกว่า 1/3 - 2/3 ของทั้งต้น

4= ใบเหี่ยวทั้งต้นยกเว้นยอด 5= พืชแสดงอาการเหี่ยวตายทั้งต้น

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 7 ปริมาณประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวและเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กษบาซิลลัสจากดินในแปลงทดลองปลูกไพลก่อนปลูกและหลังการใช้ผงเชื้อบาซิลลัส

เพื่อควบคุมโรคเหี่ยว ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-สิงหาคม 2557

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและแบคทีเรียบาซิลลัส ¹										
	ก่อนปลูก ²	เมษายน		พฤษภาคม		มิถุนายน		กรกฎาคม		สิงหาคม	
	RSx10 ³	RSx10 ⁴	BCx10 ⁴	RSx10 ⁴	BCx10 ⁴	RSx10 ⁵	BCx10 ⁵	RSx10 ⁵	BCx10 ⁵	RSx10 ⁴	BCx10 ⁵
1.LPR 1-5	11.44	2.45	6.23	17.86	8.20	1.75	1.47	1.69	2.06	6.44	1.12
2.CMS 1-2+LPS 3-2	9.81	1.66	5.97	9.64	6.25	1.74	1.55	1.77	1.98	5.90	1.60
3.CMS1-2+LPS3-2+ LPR 1-5	13.31	1.42	6.38	10.48	9.75	1.51	1.82	2.12	1.98	5.62	1.82
4.ดินร่ายาสูบ # 4	10.00	2.05	7.02	8.66	8.35	1.31	1.33	1.68	1.99	5.50	1.95
5.control	9.12	2.64	-	9.04	-	1.27	-	2.03	-	6.70	-

¹ การตรวจนับประชากรของเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดิน ใช้เทคนิค Soil plate dilution บนอาหารจำเพาะ TZC สำหรับตรวจหาเชื้อ *R. solanacearum* ส่วนแบคทีเรียบาซิลลัสใช้อาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงก่อนนับปริมาณประชากรของเชื้อแต่ละชนิดโดยหน่วยนับประชากรของแบคทีเรียเท่ากับ colony forming unit/gram ของดิน (cfu) ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

² ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เก็บจากแปลงทดลองก่อนปลูกไพล (เดือนกุมภาพันธ์ 57)

RS = *Ralstonia solanacearum* BC = *Bacillus*