รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

.....

1. ชุดโครงการวิจัย : **อารักขาพืช**

2. โครงการวิจัย : **วิจัยและพัฒนาการใช้ชีวินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช**

กิจกรรม : **การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช**

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : **การควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของพริกโดยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis***

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Controlling *Ralstonia solanacearum* Cause of Bacterial Wilt Disease in Chili by *Bacillus subtilis*

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	บูรณี พั่ววงษ์แพทย์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน	ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	ทิพวรรณ กันหาญาติ	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	รุ่งนภา ทองเครั่ง	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ทำการทดสอบที่อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง ในปี 2557-2558 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี กรรมวิธีที่ 1-4 คือแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4, *B. subtilis* สายพันธุ์ DOA-WB4, *B. subtilis* สายพันธุ์ UB no.2 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ UB no.25 โดยนำ *B. subtilis* ทั้ง 4 สายพันธุ์ มาทดสอบในสภาพแปลงทดลอง โดยรดด้วยอัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 15 วัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในปี 2557 พริกเป็นโรคเหี่ยว 9.2, 10.0, 9.2, 11.7 และ 10.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีพริกเป็นโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในปี 2558 พริกเป็นโรคเหี่ยว 7.5, 5.0, 6.25, 5.0 และ 3.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีพริกเป็นโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับการทดสอบในปี 2557 และทั้ง 2 ปี พริกเป็นโรคน้อยมากทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่นำมาทดสอบมีประสิทธิภาพหรือไม่ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

Efficacy test of *Bacillus subtilis* (Bs) for the control of bacterial wilt disease of chili caused by *Ralstonia solanacearum* was conducted in the chili fields at Hang chat district, Lampang province during 2014-2015. The experiment was arranged in RCB with four replications. Four *B. subtilis* strains, tobacco root soil no.4, DOA-WB4, UB no.2 and UB no.25, were applied as

soil drench at 50 g/ 20 liters of water every 15 days. The untreated plots were used as control. In 2014 trial, the result was not significantly different. The average percentages of wilt plants in each treatment were 9.2, 10.0, 9.2, 11.7 and 10.8 percent respectively. In 2015, similar result was obtained; the percentages of wilt plants were not significantly different in all treatments. The disease severity in both trials was low. Therefore, the efficacy of *B. subtilis* on chili wilt disease control could not be confirmed.

6. **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 ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรียจนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ 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. aeruginosa* และ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าแบคทีเรีย *P. fluorescens* มี

ประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* เมื่อนำไปใช้ในเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของต้นมะเขือเทศที่เจริญเติบโตในดินที่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดี Sanaina *et al.* (1997) ศึกษาแบคทีเรียจากบริเวณรากของต้นมันฝรั่งโดยแยกแบคทีเรียจากรากของต้นปกติและรากของต้นที่เป็นโรค นำมาคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าแบคทีเรีย *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 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าที่เมือง Bhowali และ Bhubaneswar มีผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 160 เปอร์เซ็นต์ 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 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200 เปอร์เซ็นต์

วงศ์และคณะ (2548) ทำการทดลองใช้วิธีการต่างๆ ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวในมันฝรั่ง พบว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB4 เพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมการเกิดโรคนี้ได้คุ้มทุนที่สุด ณัฎฐิมา และคณะ (2551) พบว่าเชื้อ *B. subtilis* ที่แยกได้จากดินบริเวณรากยาสูบ (ดินรากยาสูบ no.4) สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพืชได้หลายชนิด บูรณี และคณะ (2554) รายงานว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ UB No.2 และ UB No.25 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในโรงเรือนทดลองได้ 60 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB No.2 และ UB No.25 มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของพริกในแปลงทดลอง และแปลงเกษตรกร เพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของพริกที่มีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคนี้ได้

7. **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. วัสดุเกษตร ได้แก่ เมล็ดมะเขือเทศ เมล็ดพริก ดิน ถุงเพาะเมล็ด ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยคอก สารกำจัดแมลง สารกำจัดวัชพืช และสารป้องกันกำจัดโรคพืช

- วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no.2 และ UB no.25 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดสอบที่อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง ในปี 2557-2558

การเตรียมแปลงทดลอง 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 จากนั้นเตรียมแปลงทดลองจำนวน 20 แปลงย่อย ขนาดแปลงละ 8.0 x 1.5 เมตร เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพแปลงทดลองต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริก วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 2 รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* DOA-WB4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 3 รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* UB no.2 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 4 รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* UB no.25 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 5 ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* (control)

ทำการย้ายปลูกต้นกล้าพริกอายุ 28 วัน ลงในแปลงทดลอง โดยใช้ระยะปลูก 50x50 ซม. ปลูกพริก 30 ต้นต่อ 1 แปลงย่อย และรดด้วยสารละลายผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ตามกรรมวิธีที่กำหนดทุก 15 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ตรวจเช็คปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในแปลงปลูก โดยเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
2. ตรวจเช็คปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูก โดยเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
3. ตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรคทุกเดือนทดลองโดยวิธีทางสถิติ

- เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2558 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงปลูกพริกของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no.2 และ UB no.25 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพแปลงทดลอง (ปี 2557)

ทำการตรวจสอบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no. 2, UB no.25 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* เป็นโรคเหี่ยว 9.2, 10.0, 9.2, 11.7 และ 10.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกพริกทุกเดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนสิงหาคม พบว่ากรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ $1.1x10^3$, $1.7x10^2$, $2.3x10^3$, $2.4x10^2$, $1.2x10^3$, $3.1x10^3$ และ $2.7x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* DOA-WB4 มีปริมาณ *B. subtilis* DOA-WB4 เท่ากับ $1.2x10^2$, $2.2x10^3$, $2.9x10^2$, $3.1x10^3$, $1.1x10^3$, $1.1x10^4$ และ $1.5x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.2 มีปริมาณ *B. subtilis* UB no.2 เท่ากับ $2.2x10^2$, $2.4x10^2$, $1.9x10^3$, $2.3x10^3$, $1.4x10^3$, $2.1x10^3$ และ $2.9x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.25 มีปริมาณ *B. subtilis* UB no.25 เท่ากับ $3.2x10^3$, $2.7x10^3$, $2.8x10^2$, $3.5x10^2$, $4.1x10^3$, $5.1x10^3$ และ $3.1x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (Table 2)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกพริกทุกเดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนสิงหาคม พบว่ากรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.1x10^4$, $2.1x10^4$, $1.8x10^3$, $2.4x10^3$, $5.1x10^3$, $2.4x10^3$ และ $2.6x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* DOA-WB4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.3x10^4$, $1.4x10^4$, $2.5x10^3$, $1.1x10^3$, $2.1x10^4$, $2.2x10^3$ และ $2.8x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.2 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.4x10^4$, $1.7x10^3$, $1.6x10^4$, $1.2x10^3$, $2.1x10^3$, $3.1x10^3$ และ $3.3x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.25 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $3.2x10^4$, $2.2x10^3$, $1.9x10^4$, $3.1x10^4$, $1.6x10^3$, $2.1x10^3$ และ $1.5x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $3.3x10^4$, $2.8x10^4$, $4.1x10^3$, $3.4x10^4$, $5.1x10^3$, $6.1x10^3$ และ $2.2x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (Table 3)

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no.2 และ UB no.25 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพแปลงทดลอง (ปี 2558)

ทำการตรวจสอบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no. 2, UB no.25 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* เป็นโรคเหี่ยว 7.5, 5.0, 6.25, 5.0 และ 3.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 4)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกพริกทุกเดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนสิงหาคม พบว่ากรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ $1.3x10^3$, $1.1x10^3$, $1.3x10^3$, $2.1x10^3$, $2.2x10^3$, $1.1x10^4$ และ $2.2x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* DOA-WB4 มีปริมาณ *B. subtilis* DOA-WB4 เท่ากับ $2.3x10^2$, $1.2x10^2$, $2.4x10^2$, $2.1x10^3$, $3.1x10^3$, $1.4x10^3$ และ $1.3x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.2 มีปริมาณ *B. subtilis* UB no.2 เท่ากับ $3.2x10^2$, $2.2x10^2$, $1.5x10^3$, $2.2x10^3$, $1.1x10^3$, $2.2x10^3$ และ $2.4x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.25 มีปริมาณ *B. subtilis* UB no.25 เท่ากับ $1.2x10^3$, $2.5x10^3$, $2.1x10^2$, $1.5x10^2$, $3.1x10^3$, $3.1x10^3$ และ $1.1x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (Table 5)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกพริกทุกเดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนสิงหาคม พบว่ากรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.1x10^4$, $1.1x10^4$, $1.4x10^4$, $2.2x10^3$, $3.1x10^3$, $2.1x10^3$ และ $2.3x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* DOA-WB4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^4$, $1.3x10^4$, $2.1x10^3$, $2.1x10^4$, $2.3x10^4$, $3.2x10^4$ และ $2.4x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.2 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.1x10^4$, $1.3x10^4$, $1.2x10^4$, $3.2x10^3$, $3.1x10^3$, $2.1x10^3$ และ $1.3x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีรดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* UB no.25 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^4$, $2.4x10^4$, $1.5x10^4$, $2.1x10^3$, $1.4x10^3$, $2.5x10^3$ และ $3.5x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.3x10^4$, $2.4x10^4$, $3.1x10^3$, $3.2x10^3$, $4.1x10^3$, $2.1x10^3$ และ $3.2x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (Table 6)

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกในสภาพแปลงทดลอง ในปี 2557 พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no. 2, UB no.25 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* เป็นโรคเหี่ยว 9.2, 10.0, 9.2, 11.7 และ 10.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในปี 2558 พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4, DOA-WB4, UB no. 2, UB no.25 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 15 วัน และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่รดผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* เป็นโรคเหี่ยว 7.5, 5.0, 6.25, 5.0 และ 3.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีพริกเป็นโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับปี 2557 และทั้ง 2 ปี พริกเป็นโรคน้อยมากทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่นำมาทดสอบมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นักวิชาการที่เกี่ยวข้องสามารถนำผลงานวิจัยไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในพื้นที่ปลูกพริกที่มีการระบาดของโรค โดยใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ร่วมกับวิธีการอื่น เช่น วิธีการเขตกรรม วิธีการปรับปรุงดิน เป็นต้น

11. เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และ บุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2554. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุม *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. *วารสารโรคพืช*. 25: 70-78.

วงศ์ บุญสืบสกุล, วิวัฒน์ ภานุอำไพ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

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.

Table 1 Efficacy of antagonistic *B. subtilis* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2014)

Treatment	Disease incident (%)
1. *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50 g/20L of water every 15 days	9.2ns[1/]
2. *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days	10.0
3. *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days	9.2
4. *B. subtilis* strain UB no.25 50 g/20L of water every 15 days	11.7
5. control	10.8
CV (%)	12.25

[1/]Mean values within a column followed by the same letter do not differ by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$)

Table 2 Population of antagonistic *B. subtilis* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2014)

Treatment	Population of antagonistic *B. subtilis* (CFU / soil 1g)						
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug
treatment 1	$1.1x10^3$	$1.7x10^2$	$2.3x10^3$	$2.4x10^2$	$1.2x10^3$	$3.1x10^3$	$2.7x10^4$
treatment 2	$1.2x10^2$	$2.2x10^3$	$2.9x10^2$	$3.1x10^3$	$1.1x10^3$	$1.1x10^4$	$1.5x10^4$
treatment 3	$2.2x10^2$	$2.4x10^2$	$1.9x10^3$	$2.3x10^3$	$1.4x10^3$	$2.1x10^3$	$2.9x10^3$
treatment 4	$3.2x10^3$	$2.7x10^3$	$2.8x10^2$	$3.5x10^2$	$4.1x10^3$	$5.1x10^3$	$3.1x10^3$
treatment 5	-	-	-	-	-	-	-

treatment 1 *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 2 *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 3 *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days

treatment 4 *B. subtilis* strain UB no 25 50 g/20L of water every 15 days

treatment 5 control

Table 3 Population of *R. solanacearum* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2014)

Treatment	Population of *R. solanacearum* (CFU / soil 1g)						
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug
treatment 1	$1.1x10^4$	$2.1x10^4$	$1.8x10^3$	$2.4x10^3$	$5.1x10^3$	$2.4x10^3$	$2.6x10^3$
treatment 2	$1.3x10^4$	$1.4x10^4$	$2.5x10^3$	$1.1x10^3$	$2.1x10^4$	$2.2x10^3$	$2.8x10^3$
treatment 3	$2.4x10^4$	$1.7x10^3$	$1.6x10^4$	$1.2x10^3$	$2.1x10^3$	$3.1x10^3$	$3.3x10^3$
treatment 4	$3.2x10^4$	$2.2x10^3$	$1.9x10^4$	$3.1x10^4$	$1.6x10^3$	$2.1x10^3$	$1.5x10^3$
treatment 5	$3.3x10^4$	$2.8x10^4$	$4.1x10^3$	$3.4x10^4$	$5.1x10^3$	$6.1x10^3$	$2.2x10^4$

treatment 1 *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 2 *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 3 *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days

treatment 4 *B. subtilis* strain UB no 25 50 g/20L of water every 15 days

treatment 5 control

Table 4 Efficacy of antagonistic *B. subtilis* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2015)

Treatment	Disease incident (%)
1. *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50g/20L of water every 15 days	7.5ns[1/]
2. *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days	5.0
3. *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days	6.25
4. *B. subtilis* strain UB no 25 50 g/20L of water every 15 days	5.0
5. control	3.75
CV (%)	12.25

[1/]Mean values within a column followed by the same letter do not differ by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$)

Table 5 Population of antagonistic *B. subtilis* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2015)

Treatment	Population of antagonistic *B. subtilis* (CFU / soil 1g)						
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug
treatment 1	$1.3x10^3$	$1.1x10^3$	$1.3x10^3$	$2.1x10^3$	$2.2x10^3$	$1.1x10^4$	$2.2x10^4$
treatment 2	$2.3x10^2$	$1.2x10^2$	$2.4x10^2$	$2.1x10^3$	$3.1x10^3$	$1.4x10^3$	$1.3x10^4$
treatment 3	$3.2x10^2$	$2.2x10^2$	$1.5x10^3$	$2.2x10^3$	$1.1x10^3$	$2.2x10^3$	$2.4 x10^3$
treatment 4	$1.2x10^3$	$2.5x10^3$	$2.1x10^2$	$1.5x10^2$	$3.1x10^3$	$3.1x10^3$	$1.1x10^4$
treatment 5	-	-	-	-	-	-	-

treatment 1 *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 2 *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 3 *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days

treatment 4 *B. subtilis* strain UB no 25 50 g/20L of water every 15 days

treatment 5 control

Table 6 Population of *R. solanacearum* for control bacterial wilt disease of chili in the field trial. (2015)

Treatment	Population of *R. solanacearum* (CFU / soil 1g)						
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug
treatment 1	$2.1x10^4$	$1.1x10^4$	$1.4x10^4$	$2.2x10^3$	$3.1x10^3$	$2.1x10^3$	$2.3x10^3$
treatment 2	$1.2x10^4$	$1.3x10^4$	$2.1x10^3$	$2.1x10^4$	$2.3x10^4$	$3.2x10^4$	$2.4x10^3$
treatment 3	$2.1x10^4$	$1.3x10^4$	$1.2x10^4$	$3.2x10^3$	$3.1x10^3$	$2.1x10^3$	$1.3x10^3$
treatment 4	$1.2x10^4$	$2.4x10^4$	$1.5x10^4$	$2.1x10^3$	$1.4x10^3$	$2.5x10^3$	$3.5x10^3$
treatment 5	$2.3x10^4$	$2.4x10^4$	$3.1x10^3$	$3.2x10^3$	$4.1x10^3$	$2.1x10^3$	$3.2x10^3$

treatment 1 *B. subtilis* strain tobacco root soil no.4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 2 *B. subtilis* strain DOA-WB4 50 g/20L of water every 15 days

treatment 3 *B. subtilis* strain UB no.2 50 g/20L of water every 15 days

treatment 4 *B. subtilis* strain UB no 25 50 g/20L of water every 15 days

treatment 5 control