รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1.ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

2.โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไพลอย่างยั่งยืน

3.ชื่อการทดลอง คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพล

4.คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นางสุธามาศ ณ น่าน ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

ผู้ร่วมงาน นางสาวอรุณี ใจเถิง นางศศิธร วรปิติรังสี ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

นายสัจจะ ประสงค์ทรัพย์ นางสาวแสงมณี ชิงดวง สถาบันวิจัยพืชสวน

5.บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน ปุ๋ยคอก และรากพืช เพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากแหล่งปลูก จ. เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง และพะเยา สามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ได้ 323 ไอโซเลท จำแนกได้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 182 ไอโซเลท นำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) สาเหตุโรคเหี่ยวของไพลในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Paper disc diffusion method พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 3 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ RS คือ CMS 1-2, LPS 3-2 และ LPR 1-5 ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคในเรือนทดลอง ปรากฏว่าการใช้แบคทีเรียบาซิลลัส สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของไพลได้เกือบทุกกรรมวิธี ยกเว้น ไอโซเลท CMS 1-2 และไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม(+เชื้อโรคเหี่ยว) โดยแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลทดินรากยาสูบ # 4 สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท CMS 1-2 + LPS 3-2 ส่วนการทดสอบความสามารถควบคุมโรคในแปลงทดลอง หลังจากปลูกไพลนาน 5 เดือนพบว่า เชื้อแบคทีเรีย Bacillus ทุกกรรมวิธีไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของไพลได้ พบไพลในแปลงทดลองเกิดโรคเหี่ยวตายทุกกรรมวิธี ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรคเหี่ยว

Abstract

Collection of antagonistic bacteria from the soil, manures and plant roots were conducted from Chiangrai, Chiangmai, Lampang and Phayao provinces. 182 pure bacteria cultures were isolated and direct assayed by using paper disc diffusion method. Three isolates of antagonistic bacteria are CMS 1-2, LPS 3-2 and LPR 1-5 were identified and tested as bio-control microorganisms to control bacterial wilt disease of *Zingiber cassumunar* Roxb. (Phlai) under greenhouse condition. The result showed that *Bacillus* from tobacco root soil # 4 and

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) ของไพลเกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นปัญหาที่สำคัญในการผลิตไพล เนื่องจากพบการระบาดทำความเสียหายทั่วไปในแหล่งปลูกไพลของประเทศไทย บางแห่งเป็นโรครุนแรงจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ นอกจากไพลแล้วยังพบโรคเหี่ยวทำลายพืชเศรษฐกิจและวัชพืชหลายชนิด เช่น พริก มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ขิง พริกไทย ถั่วลิสง ต้นสัก มะกอก หม่อน มันสำปะหลัง งา ปทุมมา หงส์เหิน กระเจียวสีส้ม ต้อยติ่ง หญ้างวงช้าง สาบเสือ สาบแร้งสาบกา ลำโพง กะเม็ง ปัจจุบันยังไม่พบรายงานวิธีการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของไพลที่มีประสิทธิภาพ การปลูกพืชหมุนเวียนและใช้สารเคมีควบคุมโรคกระทำได้ยากและไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรเพราะแบคทีเรียสาเหตุโรคมีพืชอาศัยกว้าง สามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้นาน ค่อนข้างต้านทานสารเคมีและปฏิชีวนะสารหลายชนิด แนวทางการควบคุมโรคให้ประสบความสำเร็จต้องผสมผสานวิธีการเขตกรรม การใช้พันธุ์จากแหล่งปลอดโรค และการควบคุมโรคโดยวิธีชีวภาพหรือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่จำแนกได้จากดินแหล่งปลูกหรือดินบริเวณรอบรากพืช ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวหรือแง่งเน่าของไพลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* (RS) ในห้องปฏิบัติการ โรงเรือน และแปลงทดลอง ซึ่งควรมีการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่รวบรวมได้ ทั้งในห้องปฏิบัติการ เรือนทดลอง จนกระทั่งในสภาพแปลงทดลองปลูกไพลของเกษตรกรเพื่อยืนยันผลในการควบคุมโรคดังกล่าวก่อนที่จะพัฒนาเป็นรูปแบบที่มาสามารถนำไปใช้ได้อย่างสะดวกร่วมกับวิธีการอื่นอย่างเหมาะสม

7.วิธีดำเนินการ

-อุปกรณ์

ตู้เขี่ยเชื้อ หมอนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ เครื่องเขย่า (Rotary shaker) หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อและเครื่องแก้วอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ แง่งพันธุ์ไพล เชื้อแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยวของไพล เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่จำแนกจากตัวอย่างดินปลูกไพล และปุ๋ยคอกจากแหล่งต่างๆ ผงเชื้อบาซิลลัส, แง่งพันธุ์ไพลปลอดเชื้อโรคเหี่ยว, ปุ๋ยหมัก, ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 46-0-0, ฟางข้าว, ป้ายแปลง, ถังพลาสติก, กระบอกพ่นน้ำ, ถุงเพาะชำ วัสดุปลูก ระบบให้น้ำ อุปกรณ์ที่ใช้ในเรือนทดลองและแปลงทดลอง

-วิธีการ แบ่งเป็น 3 การทดลองย่อยได้แก่

(1) คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในห้องปฏิบัติการ

1.1 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากไพล โดยเก็บตัวอย่าง ต้นไพล แง่งไพล 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 เซลล์แขวนลอยความเข้มข้น10^8 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเติมลงในอาหารเหลวปริมาตร 200 มิลลิลิตร อุณหภูมิประมาณ 40°C ผสมให้เข้ากัน แล้วเททับบนอาหาร NGA ที่เทรองพื้นไว้บางๆ และทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมงให้หน้าอาหารแห้ง

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

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

(2) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คัดเลือกในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในสภาพเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ประกอบด้วย10 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 ดินรากยาสูบ# 4
กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุม (-เชื้อโรคเหี่ยว) วัสดุปลูกปลอดเชื้อโรค
กรรมวิธีที่ 10 กรรมวิธีควบคุม (+เชื้อโรคเหี่ยว)

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

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

2.3 ราดโคนต้นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธีทุก 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 และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยว

(3) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในแปลงทดลอง โดยเลือกใช้แปลงทดลองซึ่งพบโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียระบาด ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 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 ดินรากยาสูบ # 4 (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช)

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส)

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

3.2 เตรียมแปลงทดลอง ไถพลิกดินตากแดด 30 วัน หว่านด้วยปูนขาว และไถพรวนเพื่อทำแปลงทดลองย่อย ขนาด 1.5 x 5.0 เมตร รวม 20 แปลงย่อย ใช้ระยะปลูก 50 x 75 ซม. ปลูกแบบแถวคู่ จำนวน 20 หลุม/แปลง คลุกแง่งไพลก่อนปลูกด้วยผงเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสตามกรรมวิธี อัตรา 10 กรัม/1กิโลกรัม เมื่อต้นไพลงอกราดโคนต้นด้วยสารละลายของเชื้อบาซิลลัสทุก 20 วัน ตามกรรมวิธี ใช้ผงเชื้อบาซิลลัส อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

3.3 บันทึกผลการทดลองได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอกของต้นกล้าไพล 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)

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

(1) คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในห้องปฏิบัติการ

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

-ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 182 ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย RS สาเหตุโรคเหี่ยวของไพล โดยวิธี paper disc diffusion ในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่ามีเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ซึ่งแสดงความเป็นปฏิปักษ์ สามารถเจริญเติบโตแข่งขันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ RS สาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA ได้ดีทั้งหมดจำนวน 17 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ CMS 1-2, LPS 3-2 และLPR 1-5 ซึ่งวัดค่าเฉลี่ยความกว้างของ clear zone ได้เท่ากับ 1.80 และ1.58 ซม.ตามลำดับ จึงคัดเลือกเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท ไปทดสอบต่อในเรือนทดลองและแปลงปลูกในปีถัดไป

ตารางที่ 1 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากแหล่งปลูกไพลในเขตภาคเหนือโดยวิธีการย้อมสีแกรม[1]

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	รหัสไอโซเลทแบคทีเรีย	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	ดินปลูกไพล	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 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *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 = ดินปลูกไพลเชียงราย (Chiang-rai soil)

CRM = ปุ๋ยคอกเชียงราย (Chiang-rai manual)

CMS = ดินปลูกไพลเชียงใหม่ (Chiang-mai soil)

LPS = ดินปลูกไพลลำปาง (Lampang soil)

LPM = ปุ๋ยคอกลำปาง (Lampang manual)

LPR = รากของแง่งไพลจากลำปาง (Langpang rhizome)

PRM = ปุ๋ยคอกแพร่ (Phrae manual)

PRR = รากของแง่งไพลจากแพร่ (Phrae rhizome)

PYR = รากของแง่งไพลจากพะเยา (Phayao rhizome)

ตัวเลขหมายถึงลำดับตัวอย่างที่เก็บจากแต่ละแหล่งและไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากตัวอย่างดิน ปุ๋ยคอก หรือรากไพล

(2) ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในเรือนทดลอง

เมื่อตรวจนับจำนวนต้นไพลที่งอกหลังปลูก 50 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 และกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งใช้แบคทีเรีย ไอโซเลท CMS 1-2 + LPS 3-2 มีเปอร์เซ็นต์ของต้นกล้าไพลงอกมากที่สุด 65% เท่ากัน รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 และกรรมวิธีที่ 8 ใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย ดินรากยาสูบ # 4 (จาก culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช ซึ่งมีรายงานว่าควบคุมโรคของขิงได้ผลดี) นับเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าที่งอกได้เท่ากันคือ 45 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ 10 ซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุมพบว่า มีเปอร์เซ็นต์ต้นไพลงอกต่ำที่สุด 30 % เท่ากับกรรมวิธีที่ 5 ไอโซเลท CMS 1-2 + LPR 1-5 (ตารางที่3) อย่างไรก็ตามหลังจากไพลอายุได้ 6 เดือน ปรากฏว่า กรรมวิธีที่ 8 ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดินรากยาสูบ # 4 ที่ผลิตในรูปผงพร้อมใช้ให้ประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุด พบระดับการเกิดโรคโรคเหี่ยวของไพล 2.50 ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น รองลงมาได้แก่ กรรมวิธี 4, กรรมวิธี 3, และกรรมวิธี 7 พบระดับโรคเหี่ยว 2.55 และ 2.60 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ปลูกเชื้อโรคเหี่ยว) พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียบาซิลลัส ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของไพลได้เกือบทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 และกรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

ข้อจำกัดในการใช้เซลล์แขวนลอย (Cell suspension) ของเชื้อแบคทีเรีย Bacillus ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว ซึ่งมีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) ชุบแง่งไพลก่อนปลูกและราดโคนต้นทุกเดือน เมื่อเทียบกับวิธีการใช้ผงเชื้อแบคทีเรีย ดินรากยาสูบ # 4 ที่มีการพัฒนาจากเซลล์แขวนลอยผสมสารพาพวกผงทัลคัม (talcum) ให้นำไปใช้ได้อย่างสะดวก พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่า เนื่องจากข้อได้เปรียบของผงเชื้อที่ใช้ได้อย่างสะดวกรวดเร็วมีปริมาณเชื้อเข้มข้นสูง ในขณะที่เซลล์แขวนลอยของเชื้อสดต้องใช้ระยะเวลาในการเตรียมเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวก่อนที่จะนำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามความต้องการซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก ดังนั้นจึงควรพัฒนารูปแบบของแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้เป็นผงแป้งก่อนใช้เปรียบเทียบในระดับแปลงปลูกไพลทดลองต่อไป

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

โดยปริมาตรของเชื้อแบคทีเรียใช้ผสมวัสดุปลูกที่อัตรา 10 % ของวัสดุปลูก

ภาพที่ 2 จุ่มแง่งไพลในสารละลายแบคทีเรียบาซิลลัสตามกรรมวิธี ผึ่งให้แห้ง (ก) ก่อนปลูกลงในถุงขนาด 7x14 นิ้ว บรรจุวัสดุปลูกผสมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (ข-ค) และดูแลรักษาในโรงเรือนทดลอง (ง)

(ก) (ข) (ค) (ง)

<u>ตารางที่ 3</u> จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของต้นกล้าไพล หลังจากปลูกเป็นเวลา 50 วัน ในโรงเรือนทดลอง (จำนวน 5 ถุง ต่อซ้ำ)

กรรมวิธี	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	%ความงอก
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 เปอร์เซ็นต์ต้นไพลรอดตายเฉลี่ย 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 ดินรากยาสูบ # 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 ซ้ำๆละ 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) ผลทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไพลในแปลงทดลอง

ตรวจนับจำนวนต้นไพลที่งอกหลังจากปลูก 50 วัน พบกรรมวิธีที่ 3 ใช้ผงเชื้อบาซิลลัส CMS 1-2 + LPS 3-2 +LPR 1-5 ต้นไพลมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุดเท่ากับ 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 จะเห็นว่าเพิ่มขึ้นจากก่อนปลูกไพลเล็กน้อยคือ 1.42-2.64 x 10^4 cfu/g ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรีย Bacillus ใกล้เคียงกันในทุกกรรมวิธีที่ปริมาณ 5.97-7.0 x 10^4 cfu/g เนื่องจากเป็นช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโตของไพล (ตารางที่ 6-7)

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

เดือน มิ.ย. สภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการพัฒนาของโรคเหี่ยว เนื่องจากความชื้นสูง ฝนตกมากทำให้โรคระบาดอย่างรวดเร็วและรุนแรง ประกอบกับแปลงทดลองนี้เป็นแหล่งระบาดของโรคเหี่ยวมาก่อน อย่างไรก็ตามกรรมวิธีที่พบโรคเหี่ยวน้อย แสดงว่ามีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีคือ กรรมวิธีที่ 1 ใช้บาซิลลัส LPR 1-5 มีดัชนีการเกิดโรค 69.2 % รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 ใช้บาซิลลัสดินรากยาสูบ # 4 เกิดโรค 71.5 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ 3 ใช้บาซิลลัส 3 ไอโซเลทผสมกัน กลับพบว่ามีดัชนีการเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 6) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการแข่งขันกันระหว่างแบคทีเรียปฏิปักษ์ทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งโรคลดลงได้ ดังนั้นการใช้บาซิลลัสเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวควรเลือกใช้เฉพาะไอโซเลทที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพดีเพียงไอโซเลทเดียว สำหรับจำนวนประชากรของเชื้อ RS มีปริมาณใกล้เคียงกับเดือน พ.ค. ในขณะที่ปริมาณของเชื้อ Bacillus เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 1.33-1.82 x 10^5 cfu/g

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

กรรมวิธี จนกระทั่งไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย Bacillus ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวจากห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของไพลในแปลงปลูกได้ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการของโรคเหี่ยว ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับกาญจนาและนุชนารถ (2542) รายงานว่า การใช้เชื้อแบคทีเรียปรปักษ์ *B. cereus*, *P. aeruginosa* และ *P. putida* ควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในแปลงปลูกได้ผลไม่ชัดเจน และมีประสิทธิภาพในการควบคุมอยู่ในระดับต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดสอบในเรือนกระจก

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

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เชื้อจุลินทรีย์แยกได้จากตัวอย่างดิน แง่งไพลและปุ๋ยคอก 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 ระดับการเกิดโรคโรคเหี่ยวต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น รองมาได้แก่กรรมวิธี 4 CMS 1-2+ LPS 3-2 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (+เชื้อโรคเหี่ยว) พบว่าการใช้แบคทีเรียบาซิลลัส สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของไพลได้เกือบทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ 1 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท CMS 1-2 และกรรมวิธีที่ 6 ใช้แบคทีเรียไอโซเลท LPS 3-2 + LPR 1-5 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคในแปลงปลูก พบช่วงแรกมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคอยู่ในระดับต่ำ ต่อมาเมื่อมีโรคเหี่ยวระบาดอย่างรวดเร็วในฤดูฝน ทำให้ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของไพลในแปลงปลูกได้ทัน ดังนั้นการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียให้ได้ผลดีจำเป็นต้องผสมผสานหลายวิธีการเข้าด้วยกัน เช่น การใช้แบคทีเรียบาซิลลัส การเขตกรรม การจัดการดินในแปลงปลูกร่วมกัน

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

กลุ่มเป้าหมายคือเกษตรกรผู้ผลิตไพลเชิงพาณิชย์ นักวิชาการ นักศึกษาและผู้ที่สนใจทั่วไป

11. คำขอบคุณ(ถ้ามี)

12.เอกสารอ้างอิง

กาญจนา วิชิตตระกูลถาวร และนุชนารถ จงเลขา. 2542. การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยใช้แบคทีเรียปรปักษ์. ใน:รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4, 25-27 ต.ค. 2542 โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้จอมเทียน ชลบุรี.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วนิดา ฐิตะฐาน และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2542. โรคเหี่ยวของปทุมมา; ศึกษาสาเหตุและการควบคุมโรค. หน้า 59-76. *ใน : วารสารโรคพืช* ปีที่ 14-15 ฉบับที่ 1-2.

นิยมรัฐ ไตรศรี ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และวิภาดา ทองทักษิณ. 2544. การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาโดยวิธีการจัดการดิน. *ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 254*4. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 23 หน้า.

อภิญญา สุราวุธ. 2551. ไพล : 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 เตรียมแง่งพันธุ์ไพลขนาด 50 กรัม ตัดแบ่งโดยใช้มีดจุ่ม Clorox 10% และแช่แง่งพันธุ์ในสารป้องกันกำจัดเชื้อรา (ก) คลุกด้วยผงเชื้อบาซิลลัสที่อัตรา 10 กรัม/แง่งพันธุ์ 1 กิโลกรัม ตามกรรมวิธี ก่อนปลูกในแปลงทดลอง (ข)

(ก)

(ข)

ภาพที่ 4 เตรียมแปลงทดลองปลูกไพลขนาดแปลงย่อย 1.5 x 5.0 เมตร โรยปุ๋ยหมักรองก้นหลุมก่อนปลูก (ก) และปลูกไพลที่คลุกผงเชื้อบาซิลลัสแล้ว จำนวน 20 แง่งพันธุ์/แปลงย่อย (ข)

(ก)

(ข)

ภาพที่ 5 ไพลเริ่มแสดงอาการเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ก) และต้นไพลที่เกิดโรคเหี่ยวอย่างความรุนแรงของโรคระดับ 4-5 (ข)

(ก)

(ข)

ตารางที่ 5 จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของต้นกล้าไพล หลังจากปลูกเป็นเวลา 50 วัน ในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

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 ดินรากยาสูบ # 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 หลังจากใช้แบคทีเรียบาซิลลัสที่เป็นปฏิปักษ์คลุกแง่งพันธุ์และผสมน้ำราดเพื่อควบคุมโรคในแปลงทดลองเป็นเวลา 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 ดินรากยาสูบ # 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* สาเหตุโรคเหี่ยวและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บาซิลลัสจากดินในแปลงทดลองปลูกไพลก่อนปลูกและหลังการใช้ผงเชื้อบาซิลลัสเพื่อควบคุมโรคเหี่ยว 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.ดินรากยาสูบ # 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*