ชุดโครงการวิจัย	**วิจัยและพัฒนามันฝรั่ง**
โครงการวิจัย	**วิจัยและพัฒนาการจัดการศัตรูที่สำคัญของมันฝรั่ง**
ชื่อการทดลอง	**การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในระดับเกษตรกร**
ชื่อการทดลอง	**Application Technique Improvement of Antagonistic bacteria to Control Bacterial Wilt of Potato for Farmer Level**

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/]
รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2/]

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง (Bs) ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Rs) โดยทำการทดสอบที่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในปี 2555 ทดสอบอัตราที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียว พบว่า การรด Bs อัตรา 30, 40, 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และการใส่ Bs อัตรา 1 กรัม/หลุม ทุก 7 วัน สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้ Bs และการรด Bs อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด ในปี 2556 ทดสอบวิธีการใช้ Bs ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียว พบว่า การแช่หัวพันธุ์ การรองก้นหลุม และการคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก และรด Bs อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน สามารถลดการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้ Bs ในปี 2557 ทดสอบประสิทธิภาพของ Bs ในสภาพแปลงทดลอง พบว่าแปลงที่แช่หัวพันธุ์ และรด Bs อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 28.5 เปอร์เซ็นต์ และแปลงเปรียบเทียบ (control) เป็นโรคเหี่ยว 74.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า Bs มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในแปลงที่มีการระบาดของโรคเหี่ยว

Abstract

Efficacy test and apply of *Bacillus subtilis* (Bs) strain tobacco root soil no.4, bioproduct powder for control bacterial wilt disease of potato caused by *Ralstonia solanacearum* (Rs). This experiment was conducted in the potato fields at Fang district, Chiangmai province in 2012. Each Bs was applied at 30, 40, 50 g/20L of water and 1 g/Plant every 7 days. Promising results were obtained from Bs that could reduce bacterial wilt was significantly different from non-applied Bs. Used Bs 50 g/20L of water could more reduce bacterial wilt from another treatment. In 2013, Application test of Bs was conducted for control bacterial wilt each Bs was applied at tuber in Bs solution, support Bs in hole and was gathering dust of Bs, and to Bs 50 g/20L of

water every 7 days that could reduce bacterial wilt significant different from non-used Bs. In 2014, efficacy test of Bs for control potato bacterial wilt in field. Using tuber soaking in Bs solution and applied Bs 50 g/20L of water every 7 days was the best efficiency control of potato bacterial wilt in field.

รหัสการทดลอง 01-36-54-03-01-00-04-55

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

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 การเขตกรรม และการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง และเป็นที่ยอมรับอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้อง และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรีย จนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลายเช่น รา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นต้น

แบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ มีอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืช และแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย 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* มีประสิทธิภาพมากที่สุด 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% ตามลำดับ และพบว่าที่เมือง Bhowali และ Bhubaneswar มีผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 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 และพบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพืชได้หลายชนิด ณัฏฐิมา และคณะ (2551) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดินรากยาสูบ no.4 มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวในแปลงมันฝรั่งของเกษตรกร เพื่อป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งอย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ได้

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. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน ปุ๋ย สารกำจัดแมลง สารป้องกันกำจัดโรคพืช และหัวพันธุ์มันฝรั่ง

วิธีการ

1 การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่าย เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เติมสารละลาย 0.1M magnesium sulfate ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ carboxymethylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติก ก่อนนำไปใช้ทดสอบในแปลงต่อไป (Xu and Gross, 1986)

การตรวจปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จที่ผลิตได้ นำผงสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 จำนวน 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

2. ทดสอบประสิทธิภาพและเทคนิคการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

การเตรียมแปลงทดลอง เตรียมแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยอบดินด้วยยูเรียผสมกับปูนขาวอัตรา 80 ต่อ 800 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1 ไร่ เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในดิน หลังจากอบดิน 3 สัปดาห์ จึงเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่ำเสมอ โดยปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวเขียวลงในแปลงทดสอบ 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* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองต่อไป

2.1 การทดลองเพื่อหาอัตราการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

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

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

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

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

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

2.2 การทดลองเพื่อหาวิธีการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุม และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก (10 กรัม/มันฝรั่ง 1 กิโลกรัม) และรดด้วยสารละลายผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีควบคุม ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

3. ทดสอบประสิทธิภาพและเทคนิคการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร

ทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร โดยแบ่งแปลงทดลองเป็น 2 แปลง คือ

(1) แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

(2) แปลงเปรียบเทียบ (control)

1. แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

การเตรียมแปลงทดลอง

1. ไถพรวนดิน จากนั้นเริ่มไถเปิดหน้าดิน และยกร่องให้ลึก 15-20 ซ.ม.
2. แช่หัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. รดด้วยผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน โดยรดครั้งสุดท้ายก่อนเก็บเกี่ยว 2 สัปดาห์

<u>2. แปลงเปรียบเทียบ (control)</u>

เตรียมแปลงทดลองโดยการไถพรวนดิน และทำร่องโดยไม่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แช่หัวพันธุ์ และไม่รดด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

การตรวจผลการทดลอง

1. ตรวจเช็คปริมาณเชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในแปลงปลูกโดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
2. ตรวจเช็คปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูก โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน
3. ตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรคทุกเดือน

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2557 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกมันฝรั่งที่ศูนย์วิจัยการเกษตรจังหวัดเชียงใหม่ และแปลงปลูกมันฝรั่งของเกษตรกร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

การเตรียมผงสำเร็จอย่างง่ายของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1M, carboxymethylcellulose ความเข้มข้น 2.5% และสารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่ผลิตได้ โดยนำส่วนผสมผงสำเร็จแบคทีเรีย 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เตรียมจากอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) คือ 3.2×10^{10} หน่วยโคโลนี/กรัม

2 ทดสอบประสิทธิภาพและเทคนิคการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

2.1 การทดลองเพื่อหาอัตราการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มปลูกมันฝรั่งในวันที่ 24 มกราคม 2555 ตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ และทำการตรวจสอบจำนวนต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยวเขียวทุกเดือน พบว่ากรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งได้ดีที่สุด มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 14.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุมปลูก ที่เป็นโรคเหี่ยว 19.7, 43.1 และ 45.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ 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* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 1.3×10^2, 3.2×10^3 และ 5.4×10^3 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ

กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 6.2×10^2, 7.3×10^3 และ 2.7×10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 1.8×10^3, 2.4×10^5 และ 6.4×10^5 ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุมปลูก มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 4.2×10^2, 5.6×10^3 และ 8.3×10^3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

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

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 และแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง คือ กรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง ทั้ง 4 กรรมวิธี มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แตกต่างกัน คือ กรรมวิธีที่ใช้ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มากที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวน้อยที่สุด ส่วนกรรมวิธีที่รดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ใกล้เคียงกับ กรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 1 กรัม/หลุมปลูก ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวใกล้เคียงกัน และทั้ง 4 กรรมวิธีมีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของทั้ง 4 กรรมวิธีต่ำกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ที่มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* คงที่ไม่ลดลง

2.2 การทดลองเพื่อหาวิธีการใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มปลูกมันฝรั่งในวันที่ 26 พฤศจิกายน 2555 ตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ และทำการตรวจสอบจำนวนต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่ากรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง และกรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีการเกิดโรคเหี่ยว 37.8, 36.2 และ 34.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้

ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่เป็นโรคเหี่ยว 88.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 2.80 x10^4, 4.25 x 10^4 และ 5.35 x 10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 3.60 x10^4, 5.45 x 10^4 และ 2.70 x 10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 3.40 x 10^4, 4.40 x 10^4 และ 2.60 x 10^4 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า กรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 1.90 x10^5, 5.31 x 10^3 และ 2.18 x 10^2 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 4.62 x10^5, 6.20 x 10^3 และ 1.72 x 10^2 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่ง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 2.75 x 10^5, 6.80 x 10^4 และ 4.45 x 10^2 ตามลำดับ ส่วนกรรมกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผง มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 5.50 x 10^5, 7.30 x 10^5 และ 6.45 x 10^5 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 และแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่ง คือ กรรมวิธีที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 ทั้ง 3 กรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ และทั้ง 3 กรรมวิธีมีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ใกล้เคียงกัน ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวไม่แตกต่างกัน และทั้ง 3 กรรมวิธีมีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของทั้ง 3 กรรมวิธีต่ำกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรมวิธีที่ไม่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ที่มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* คงที่ไม่ลดลง

3. ทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร

การทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มปลูกมันฝรั่งในวันที่ 3 ธันวาคม 2556 ตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ และทำการตรวจสอบจำนวนต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่าแปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เป็นโรคเหี่ยว 28.5 เปอร์เซ็นต์ และแปลงเปรียบเทียบ (control) เป็นโรคเหี่ยว 74.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 เท่ากับ 1.5 x10^4, 3.2 x 10^5 และ 5.4 x 10^5 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนแปลงเปรียบเทียบ (control) ไม่พบแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 (ตารางที่ 8)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกมันฝรั่งทุก 30, 60 และ 90 วัน พบว่า แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 1.6 $\times 10^4$, 2.3 $\times 10^3$ และ 1.1 $\times 10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนแปลงเปรียบเทียบ (control) มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 2.2 $\times 10^4$, 3.5 $\times 10^5$ และ 6.5 $\times 10^5$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพของผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่ง คือ กรรมวิธีที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวต่ำกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรมวิธีที่ไม่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ที่มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เพิ่มขึ้น

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ในอัตราการใช้ที่แตกต่างกัน พบว่ากรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 43.1 เปอร์เซ็นต์ กรรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง 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/หลุมปลูก ทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 45.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 4 กรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวเท่ากับ 76.1 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ดีที่สุด คือ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยผลิตภัณฑ์แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 7 วัน

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ในวิธีการใช้ที่แตกต่างกัน พบว่ากรรมวิธีแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 37.8 เปอร์เซ็นต์ กรรรมวิธีรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 36.2 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีคลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 34.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* แบบผงที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวเท่ากับ 88.4 สรุปได้ว่าทุกกรรมวิธีสามารถทำให้มันฝรั่งในแปลงทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง ในสภาพแปลงทดลอง พบว่าแปลงที่แช่หัวพันธุ์ และรด *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน มันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว 28.5 เปอร์เซ็นต์ และแปลงเปรียบเทียบ (control) เป็นโรคเหี่ยว 74.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในแปลงที่มีการระบาดของ

โรคเหี่ยวเขียว

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. กรมวิชาการเกษตร มีแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง สามารถนำไปขยายผลไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ หรือพัฒนาเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์หัวเชื้อที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ ตรงตามความต้องการของตลาด

2. นักวิชาการที่เกี่ยวข้องสามารถนำผลงานวิจัยไปขยายผลทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง และถ่ายทอดเทคโนโลยีการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้แก่เกษตรกร เป็นการช่วยเหลือเกษตรกรให้สามารถมีรายได้เพิ่มมากขึ้น มีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นและยังเป็นการส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์ และอาหารปลอดภัย ตามนโยบายของประเทศอีกด้วย

3. เผยแพร่ผลงานวิจัยสู่นักวิชาการ นิสิต นักศึกษา ภาคเอกชน เกษตรกร และผู้สนใจ ในรูปการตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสาร บทความทางวิชาการ การบรรยายในงานประชุมวิชาการของหน่วยงานต่างๆ และอบรมแก่ผู้สนใจและเกษตรกรโดยตรง และเสนอผลงานในการประชุมระดับชาติและนานาชาติได้

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และบุษราคัม อุดมศักดิ์. 2551. พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *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 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.

Xu, G.W. and D.C. Gross. 1986. Field evaluation of the interaction among *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora* and potato yield. Phytophathology 76: 423-430.

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

กรรมวิธี	การเกิดโรคเหี่ยว (เปอร์เซ็นต์)
1. คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	43.1c[1/]
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

[1/] ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ประชากรของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	1.3×10^2	3.2×10^3	5.4×10^3
2. กรรมวิธีที่ 2	6.2×10^2	7.3×10^3	2.7×10^4
3. กรรมวิธีที่ 3	1.8×10^3	2.4×10^5	6.4×10^5
4. กรรมวิธีที่ 4	4.2×10^2	5.6×10^3	8.3×10^3

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/หลุมปลูก ทุก 7 วัน

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

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

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/หลุมปลูก ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	การเกิดโรคเหี่ยว (เปอร์เซ็นต์)
1.แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	37.8a[1/]
2.รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	36.2a
3.คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน	34.4a
4.ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)	88.4b
CV (%)	21.92

[1/] ตัวเลขในแต่ละคอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยการวิเคราะห์แบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 ประชากรของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	2.80×10^4	4.25×10^4	5.35×10^4
2. กรรมวิธีที่ 2	3.60×10^4	5.45×10^4	2.70×10^4
3. กรรมวิธีที่ 3	3.40×10^4	4.40×10^4	2.60×10^4

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน

ตารางที่ 6 ประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	1.90×10^5	5.31×10^3	2.18×10^2
2. กรรมวิธีที่ 2	4.62×10^5	6.20×10^3	1.72×10^2
3. กรรมวิธีที่ 3	2.75×10^5	6.80×10^4	4.45×10^2
4. กรรมวิธีที่ 4	5.50×10^5	7.30×10^5	6.45×10^5

กรรมวิธีที่ 1 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 2 รองก้นหลุมก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 3 คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก+รดผงเชื้อ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน
กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใช้ผงเชื้อ (control)

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร

กรรมวิธี	การเกิดโรคเหี่ยว (เปอร์เซ็นต์)
1. แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรีย *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4	28.5
2. แปลงเปรียบเทียบ (control)	74.5

ตารางที่ 8 ประชากรของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร

กรรมวิธี	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	1.5×10^4	3.2×10^5	5.4×10^5
2. กรรมวิธีที่ 2	-	-	-

กรรมวิธีที่ 1 แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4
กรรมวิธีที่ 2 แปลงเปรียบเทียบ (control)

ตารางที่ 9 ประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 แบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกร

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน
1. กรรมวิธีที่ 1	1.6×10^4	2.3×10^3	1.1×10^3
2. กรรมวิธีที่ 2	2.2×10^4	3.5×10^5	6.5×10^5

กรรมวิธีที่ 1 แปลงที่ใช้ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4

กรรมวิธีที่ 2 แปลงเปรียบเทียบ (control)