การใช้วิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา

Controlling of Bacterial Wilt Disease of Siam Tulip caused by *Ralstonia solanacearum* by Soil Amendment and Antagonistic Bacteria

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเครื่ง
ทิพวรรณ กันหาญาติ กาญจนา ศรีไม้
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Efficacy test of soil amendment and antagonistic bacteria *Bacillus subtilis* for the control of bacterial wilt disease of Siam Tulip caused by *Ralstonia solanacearum* was conducted in the fields at Ta-Muang district, Kanchanaburi province during 2016-2017. The experiment was arranged in RCB with four replications. Six treatments including soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai, soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai, soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture (strain BS-DOA 108 and BS-DOA 114) before planting in combination with monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water, soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai in combination with soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water, soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai in combination with soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water, and the untreated control. Promising results were obtained from the combination of soil amendment with urea : lime (CaO) and *B. subtilis* application. The disease incidences were 28.13 and 9.38 percent in the first and second year respectively, significantly lower than the untreated control which the disease incidences were 82.50 and 45.60 percent in the first and second year respectively.

Keywords : Soil Amendment *Ralstonia solanacearum* Bacterial wilt *Bacillus* subtilis

รหัสการทดลอง 01-22-59-01-01-00-01-59

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการจัดการดินร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ทำการทดลองในสภาพแปลงปลูกที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในปี 2559-2560 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยการจัดการดินด้วยยูเรียและปูนขาวอัตรา 80 : 800 กิโลกรัมต่อไร่ การจัดการดินด้วยคลอรีนผง อัตรา 80 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตรทุก 30 วัน การจัดการดินด้วยยูเรียและปูนขาว ร่วมกับ การใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 การจัดการดินด้วยคลอรีนผง ร่วมกับ การใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 และการไม่จัดการดินและไม่ใช้ *B. subtilis* เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ผลการทดสอบพบว่า การจัดการดินด้วยยูเรียและปูนขาว ร่วมกับ การใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด โดยปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 28.13 และ 9.38 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 1 และ 2 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 82.50 และ 45.60 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

คำหลัก : การจัดการดิน ปทุมมา โรคเหี่ยว แบคทีเรียปฏิปักษ์

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*, Gagnep) เป็นไม้พื้นบ้านของไทย อยู่ในกลุ่มพืชสกุลกระเจียว เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกับขิง ข่า มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบอีสานของประเทศไทย ปัจจุบันนำมาใช้เป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และไม้ประดับแปลง (วิภาดา และนิพัฒน์, 2537) เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ โดยเริ่มมีการส่งออกเหง้าหรือหัวพันธุ์ปทุมมาในปี พ.ศ. 2528 ตลาดการส่งออกปทุมมาที่สำคัญ คือ ญี่ปุ่น อเมริกา และเนเธอร์แลนด์ แต่การผลิตหัวพันธุ์ปทุมมาประสบปัญหาศัตรูพืช ทำให้ได้ผลผลิตต่ำและไม่มีคุณภาพ หัวพันธุ์มีเชื้อสาเหตุโรคพืชแฝงอยู่ โดยเฉพาะที่เป็นศัตรูกักกัน ทำให้เกิดปัญหาในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมา โดยในปี 2540 ประเทศเนเธอร์แลนด์ตรวจพบแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) หรือโรคหัวเน่า (brown rot) ติดไปกับหัวพันธุ์ปทุมมาจากประเทศไทย และเผาทำลายทิ้ง ทำให้หัวพันธุ์ปทุมมาที่จะส่งไปยังประเทศเนเธอร์แลนด์ต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับไปทุกครั้ง

แบคทีเรีย *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยวที่ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ตั้งแต่พืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ *Solanaceae* (Hayward, 1964) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่แบคทีเรียเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรีย ในประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่เป็น

พืชอาศัยของแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยากเนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคมีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง และเป็นที่ยอมรับอย่างมาก การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้อง และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืชทั้งราและแบคทีเรียจนกระทั่งผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย ได้แก่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นต้น

แบคทีเรีย *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ มีอยู่มากมายทั้งในดินตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย และเจริญได้รวดเร็วที่บริเวณรากพืช นอกจากนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* ยังมีความสามารถในการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) (Baker and Cook, 1974) มีรายงานการใช้แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ Celino and Gotllieb (1952) ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* B_3 A ใส่ลงในดินที่มีแบคทีเรียสาเหตุโรค สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจาก 70 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ 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 เปอร์เซ็นต์, 27-70 เปอร์เซ็นต์ และ 24-71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าที่เมือง Bhowali และ Bhubaneswar มีผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 160 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศไทย ณัฏฐิมา *et al* (2553) ได้คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก ดิน ปุ๋ยคอก และรากพืช นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Direct bioassay (Disc diffusion method) ได้จำนวน 8 ไอโซเลท นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

พบว่ามีแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60% นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลทไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลอง พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลองได้ 43 และ 41 % ตามลำดับ เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงเกษตรกรเป็นเวลา 2 ปี (2551-2552) โดยทดสอบในพื้นที่เดิม พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด โดยในปี 2551 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรได้ร้อยละ 48.67 และได้ผลผลิต 506.67 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม เกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 62.67 ได้ผลผลิตเพียง 142.22 กิโลกรัม/ไร่ และในปี 2552 ควบคุมโรคเหี่ยวได้ร้อยละ 74.67 ได้ผลผลิต 782.22 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะกรรมวิธีควบคุม เกิดโรคเหี่ยวร้อยละ 43.33 ได้ผลผลิตเพียง 382.22 กิโลกรัม/ไร่

การปรับปรุงดิน (soil amendment) เป็นวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดความเสียหายเนื่องจากโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้แก่ Elphinstone and Aley (1993) รายงานว่าการใช้ยูเรีย อัตรา 428 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ กับปูนเผา (CaO) อัตรา 5,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ผสมให้เข้ากันในดินที่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร ก่อนปลูกมะเขือเทศ พบว่ามะเขือเทศไม่แสดงอาการเหี่ยวแต่ในแปลงเปรียบเทียบมะเขือเทศแสดงอาการเหี่ยว 96.7 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศไทย Thaveechai et al. (1997) ทำการทดลองโดยใช้ยูเรีย : ปูนเผาในอัตรา 428 : 5,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ในสภาพเรือนทดลอง พบว่ามะเขือเทศรอดตาย 63 เปอร์เซ็นต์ ส่วนดินที่ไม่ได้รับการปรับปรุงด้วยยูเรียและปูนเผามีต้นรอดตายเพียง 6.7 เปอร์เซ็นต์ อรพรรณ และ ณัฏฐิมา (2552) ทำการทดลองโดยการปรับปรุงดินในแปลงก่อนปลูกพริกด้วยยูเรีย : ปูนขาวในอัตรา 80 : 800 กิโลกรัมต่อไร่ พบว่าสามารถลดความเสียหายจากโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากแบคทีเรียได้ 80.84 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำวิธีการจัดการดินเพื่อลดประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ก่อนปลูกปทุมมามาใช้ร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 เพื่อควบคุมโรคเหี่ยว ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและเป็นสาเหตุให้เกษตรกรไม่สามารถส่งออกหัวพันธุ์ไปยังต่างประเทศได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุเกษตร ได้แก่ หัวพันธุ์ปทุมมา ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยคอก สารกำจัดแมลง สารป้องกันกำจัดโรคพืช และบัวรดน้ำ เป็นต้น
2. สารเคมีที่ใช้ในการจัดการดิน ได้แก่ ผงคลอรีน ยูเรีย และปูนขาว
3. เชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์. BS-DOA 108 และสายพันธุ์ BS-DOA 114
4. สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมผงเชื้อ *B. subtilis* ได้แก่ talcum magnesium sulfate และ carboxymethylcellulose 2.5%

5. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ เครื่องชั่ง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง เครื่องเขย่า (Shaker) และตู้แช่แข็ง (Freezer) –20 องศาเซลเซียส เป็นต้น

6. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย เช่น Beef extract Peptone Agar Casein hydrolysate และ Glucose เป็นต้น

7. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล

วิธีการ

การทดสอบวิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดสอบที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในปี 2559-2560

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114

การเตรียมผงเชื้ออย่างง่าย เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เติมสารละลาย 0.1M magnesium sulfate ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลาย จากนั้นนำไปผสมกับ carboxymethylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารตัวพาผงแป้งทัลคัม (Talcum) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติก ก่อนนำไปใช้ทดสอบในแปลงต่อไป

การตรวจปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้ นำผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 จำนวน 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

การเตรียมแปลงทดลอง

เตรียมแปลงทดลอง 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

การตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนทำการทดลอง

ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนเริ่มทำการทดลองโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุด นำมารวมกันแล้วนำไปชั่งจำนวน 10 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดแก้ว (flask) เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 30 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน นำสารละลายดินมาทำ serial dilution ให้มีความเข้มข้น 10^{-1}-10^{-8} จากนั้นนำสารละลายดิน 0.1 มิลลิลิตร ของความเข้มข้นที่ 10^{-2} 10^{-4} 10^{-6} และ 10^{-8} มากระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SM-1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส นาน 3 - 5 วัน ตรวจนับปริมาณบนอาหาร

การทดสอบวิธีการจัดการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของปทุมมา

การทดสอบวิธีการจัดการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมา โดยการใช้วิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ดำเนินงานทดลองในแปลงทดลอง ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 การจัดการดินโดยใช้ยูเรีย : ปูนขาว อัตรา 80 : 800 กก./ไร่ คลุกเคล้ากับดินในแปลงให้ทั่ว รดน้ำ และคลุมแปลงด้วยพลาสติก 2 สัปดาห์ แล้วเปิดพลาสติกให้ก๊าซระเหยออก 1 สัปดาห์ก่อนปลูกพืช

กรรมวิธีที่ 2 การจัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ คลุกเคล้ากับดินในแปลงให้ทั่ว รดน้ำ และคลุมแปลงด้วยพลาสติก 2 สัปดาห์ แล้วเปิดพลาสติกให้ก๊าซระเหยออก 1 สัปดาห์ก่อนปลูกพืช

กรรมวิธีที่ 3 ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 ร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมา ก่อนปลูก และรดแปลงปลูกหลังปลูกพืชทันทีด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร แล้วรดซ้ำทุก 30 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ใช้กรรมวิธีที่ 1 ร่วมกับ กรรมวิธีที่ 3

กรรมวิธีที่ 5 ใช้กรรมวิธีที่ 2 ร่วมกับ กรรมวิธีที่ 3

กรรมวิธีที่ 6 กรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยไม่มีการจัดการโรค

การปลูกปทุมมาเพื่อใช้ในการทดสอบ

เตรียมแปลงทดลองจำนวน 24 แปลงย่อย ขนาดแปลงละ 1 x 8 เมตร จากนั้นทำการจัดการดินตามแผนการทดลองที่วางไว้ และทำการปลูกปทุมมาตามแผนการทดลอง โดยใช้หัวพันธุ์ปทุมมา 40 หัวต่อแปลงย่อย

การตรวจผลการทดลอง

1. ตรวจนับต้นที่แสดงอาการเหี่ยวทุกเดือน

2. ตรวจหาปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูก โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือน

นำเปอร์เซ็นการเป็นโรคเหี่ยวมาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2560 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงปลูกปทุมมา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบวิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง ในปี 2559

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114

ผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ในผงเชื้อที่ทำการเตรียมเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยว พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 2.2×10^9 และ 1×10^9 หน่วยโคโลนี/ผงเชื้อ 1 กรัม

การเตรียมแปลงทดลอง และตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ก่อนทำการทดลอง

ผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงปลูกที่อบดินด้วยยูเรียผสมปูนขาวเพื่อฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในดิน และทำการเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่ำเสมอ ก่อนเริ่มทำการทดลอง พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ 2.5×10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม

การทดสอบวิธีการจัดการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของปทุมมา

ทำการตรวจสอบจำนวนต้นปทุมมาที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ที่ทำการจัดการดินโดยใช้ ยูเรีย 80 กก. ต่อ ปูนขาว 800 กก./ไร่ ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุด โดยปทุมมาเป็นโรคเหี่ยวเพียง 28.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ

กรรมวิธีที่ 5 คือการจัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน ที่ปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 32.50 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 5 ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ที่จัดการดินโดยใช้ยูเรีย : ปูนขาว อัตรา 80 : 800 กก./ไร่ ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 39.38 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 1 ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ที่จัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 42.50 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 ที่ใช้เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 51.25 เปอร์เซ็นต์ และทุกกรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 คือกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่มีการจัดการโรค ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 82.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาจากแปลงปลูกปทุมมาทุกเดือน โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินหลังปรับปรุงดินด้วยกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง เดือนธันวาคม พบว่า กรรมวิธีที่ 1 การจัดการดินโดยใช้ยูเรีย : ปูนขาว อัตรา 80 : 800 กก./ไร่ มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.1x10^2$ $3.1x10^2$ $3.8x10^2$ $2.4x10^2$ $5.1x10^3$ $1.4x10^3$ $2.6x10^3$ และ $3.6x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 2 การจัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.3x10^3$ $1.4x10^3$ $2.5x10^3$ $3.1x10^3$ $2.1x10^4$ $2.2x10^3$ $2.8x10^4$ และ $4.8x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 3 ใช้เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูกและรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.4x10^4$ $1.7x10^4$ $1.6x10^4$ $1.2x10^4$ $1.1x10^4$ $3.1x10^4$ $2.3x10^3$ และ $3.3x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 4 ใช้กรรมวิธีที่ 1 ร่วมกับ กรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^2$ $2.7x10^2$ $3.9x10^2$ $3.5x10^2$ $2.6x10^2$ $2.3x10^2$ $2.1x10^2$ และ $1.5x10^2$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 5 ใช้กรรมวิธีที่ 2 ร่วมกับ กรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^3$ $2.2x10^3$ $1.9x10^3$ $3.1x10^3$ $1.6x10^3$ $2.5x10^3$ $3.6x10^3$ และ $4.5x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม และกรรมวิธีที่ 6 กรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่มีการจัดการโรค มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $3.3x10^4$ $2.8x10^4$ $4.1x10^5$ $3.4x10^5$ $5.1x10^5$ $6.1x10^5$ $2.2x10^5$ และ $5.2x10^5$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 2)

ผลการทดสอบวิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง ในปี 2560

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114

ผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-

DOA 114 ในผงเชื้อที่ทำการเตรียมเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยว พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^9$ และ $3.1x10^9$ หน่วยโคโลนี/ผงเชื้อ 1 กรัม

การเตรียมแปลงทดลอง และตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ก่อนทำการทดลอง

ผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงปลูกที่อบดินด้วยยูเรียผสมปูนขาวเพื่อฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในดิน และทำการเพิ่มปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในแปลงปลูกให้มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* สม่ำเสมอ ก่อนเริ่มทำการทดลอง พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $5.9x10^4$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม

การทดสอบวิธีการจัดการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของปทุมมา

ทำการตรวจสอบจำนวนต้นปทุมมาที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ที่ทำการจัดการดินโดยใช้ ยูเรีย 80 กก. ต่อ ปูนขาว 800 กก./ไร่ ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุด โดยปทุมมาเป็นโรคเหี่ยวเพียง 9.38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ที่จัดการดินโดยใช้ยูเรีย : ปูนขาว อัตรา 80 : 800 กก./ไร่ ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 16.25 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ที่จัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 18.13 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 ที่จัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน ที่ปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 11.25 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 ที่ใช้เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 22.50 เปอร์เซ็นต์ และทุกกรรมวิธีที่ทำการทดสอบ พบต้นปทุมมาเป็นโรคเหี่ยวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่มีการจัดการโรค ซึ่งปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 45.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาจากแปลงปลูกปทุมมาทุกเดือน โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินหลังปรับปรุงดินด้วยกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง เดือนธันวาคม พบว่า กรรมวิธีที่ 1 การจัดการดินโดยใช้ยูเรีย : ปูนขาว อัตรา 80 : 800 กก./ไร่ มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $3.1x10^2$ $2.1x10^2$ $3.2x10^2$ $3.4x10^2$ $1.1x10^2$ $2.4x10^2$ $2.2x10^2$ และ $3.2x10^2$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 2 การจัดการดินโดยใช้คลอรีนผง อัตรา 80 กก./ไร่ มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.2x10^3$ $2.4x10^3$ $2.3x10^3$ $3.2x10^3$ $2.5x10^3$ $1.7x10^3$ $2.6x10^3$ และ $2.8x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 3 ใช้เชื้อ *B.*

subtilis สายพันธุ์ BS-DOA 108 ร่วมกับ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.3x10^4$ $1.5x10^4$ $2.6x10^3$ $2.2x10^3$ $1.5x10^3$ $4.1x10^3$ $1.3x10^3$ และ $2.3x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 4 ใช้กรรมวิธีที่ 1 ร่วมกับกรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.5x10^2$ $1.7x10^2$ $3.2x10^2$ $3.1x10^2$ $2.7x10^2$ $2.3x10^2$ $1.1x10^2$ และ $1.4x10^2$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม กรรมวิธีที่ 5 ใช้กรรมวิธีที่ 2 ร่วมกับ กรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $2.2x10^2$ $3.2x10^2$ $1.5x10^2$ $2.1x10^2$ $1.4x10^2$ $3.5x10^2$ $3.2x10^2$ และ $3.5x10^2$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม และกรรมวิธีที่ 6 กรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่มีการจัดการโรค มีปริมาณแบคทีเรีย *R. solanacearum* เท่ากับ $1.3x10^4$ $2.2x10^4$ $2.1x10^5$ $1.4x10^5$ $3.1x10^5$ $2.4x10^5$ $2.7x10^5$ และ $4.2x10^5$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการจัดการดินร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ทำการทดลองในสภาพแปลงปลูกที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในปี 2559-2560 ผลการทดสอบพบว่า การจัดการดินโดยใช้ ยูเรีย 80 กก. ต่อ ปูนขาว 800 กก./ไร่ ร่วมกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูก และรดด้วยอัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุด โดยปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 28.13 และ 9.38 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 1 และ 2 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบปทุมมาเป็นโรคเหี่ยว 82.50 และ 45.6 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

จากผลการทดสอบที่ได้ จึงควรนำวิธีการจัดการดินร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในพื้นที่ปลูกปทุมมาที่มีการระบาดของโรค โดยใช้กรรมวิธีที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุดในการทดลองนี้ คือ การจัดการดินด้วยยูเรียและปูนขาว ร่วมกับ การใช้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BS-DOA 108 และ BS-DOA 114 โดยนำไปใช้ร่วมกับวิธีการเขตกรรม เช่น การขุดต้นปทุมมาที่เป็นโรคเหี่ยวออกจากแปลงและโรยยูเรียผสมปูนขาวอัตรา 80 : 800 กิโลกรัมต่อไร่ ลงในหลุม กลบดินตบดินให้แน่นแล้วรดน้ำเพื่อให้เกิดแก๊สพิษฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* บริเวณนั้น ซึ่งวิธีการนี้สามารถป้องกันการระบาดของโรคเหี่ยวไปยังบริเวณใกล้เคียงได้ดี

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิภาดา ทองทักษิณ สุธามาศ ณ น่าน 2553. การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 2461-2480.

วิภาดา ทองทักษิณ และ นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2537. ปทุมมา. กสิกร. 67(5): 415-419.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2552. การจัดการโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 163-168.

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).

Elphinstone, J.G. and P. Aley. 1993. Integrated control of bacterial wilt of potato in the warm tropic of Peru, pp. 276-283. *In* G.L. Hartman and A.C. Hayward (eds.). Bacterial wilt. Proceeding of an International Conference held at Kaohsiung, Taiwan.

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.

Thaveechai, N., W. Kositratana, V. Phuntumart, C. Leksomboon and P. Khongplean. 1997. Management of bacterial wilt of tomato, pp. 397-407. *In* E.M. Libas (ed.). Collaborative vegetable research in Southeast Asia. Proseeding of the AVNET II Final Workshop, Bangkok, Thailand.

Table 1 Efficacy of soil amendment and antagonistic bacteria for the control of bacterial wilt disease of Siam Tulip in the fields at Kanchanaburi province in 2016.

Treatment	Disease incident (%)
1. soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai	39.38bc
2. soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai	42.50cd
3. soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water	51.25d
4. treatment 1 + treatment 3	28.13a
5. treatment 2 + treatment 3	32.50ab
6. control	82.50e
CV (%)	12.10

[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 *Ralstonia solanacearum* in controlling bacterial wilt disease of Siam Tulip in the fields at Kanchanaburi province in 2016.

Treatment	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)							
	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
treatment 1	$2.1x10^2$	$3.1x10^2$	$3.8x10^2$	$2.4x10^2$	$5.1x10^3$	$1.4x10^3$	$2.6x10^3$	$3.6x10^3$
treatment 2	$1.3x10^3$	$1.4x10^3$	$2.5x10^3$	$3.1x10^3$	$2.1x10^4$	$2.2x10^3$	$2.8x10^4$	$4.8x10^4$
treatment 3	$2.4x10^4$	$1.7x10^4$	$1.6x10^4$	$1.2x10^4$	$1.1x10^4$	$3.1x10^4$	$2.3x10^3$	$3.3x10^3$
treatment 4	$1.2x10^2$	$2.7x10^2$	$3.9x10^2$	$3.5x10^2$	$2.6x10^2$	$2.3x10^2$	$2.1x10^2$	$1.5x10^2$
treatment 5	$1.2x10^3$	$2.2x10^3$	$1.9x10^3$	$3.1x10^3$	$1.6x10^3$	$2.5x10^3$	$3.6x10^3$	$4.5x10^3$
treatment 6	$3.3x10^4$	$2.8x10^4$	$4.1x10^5$	$3.4x10^5$	$5.1x10^5$	$6.1x10^5$	$2.2x10^5$	$5.2x10^5$

treatment 1 soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai

treatment 2 soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai

treatment 3 soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water

treatment 4 treatment 1 + treatment 3

treatment 5 treatment 2 + treatment 3

treatment 6 control

Table 3 Efficacy of soil amendment and antagonistic bacteria for the control of bacterial wilt disease of Siam Tulip in the fields at Kanchanaburi province in 2017.

Treatment	Disease incident (%)
1. soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai	16.25ab
2. soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai	18.13ab
3. soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water	22.50b
4. treatment 1 + treatment 3	9.38a
5. treatment 2 + treatment 3	11.25a
6. control	45.63c
CV (%)	27.92

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

Table 4 Population of *Ralstonia solanacearum* in controlling bacterial wilt disease of Siam Tulip in the fields at Kanchanaburi province 2017.

Treatment	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)							
	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
treatment 1	$3.1x10^2$	$2.1x10^2$	$3.2x10^2$	$3.4x10^2$	$1.1x10^2$	$2.4x10^2$	$2.2x10^2$	$3.2x10^2$
treatment 2	$1.2x10^3$	$2.4x10^3$	$2.3x10^3$	$3.2x10^3$	$2.5x10^3$	$1.7x10^3$	$2.6x10^3$	$2.8x10^3$
treatment 3	$2.3x10^4$	$1.5x10^4$	$2.6x10^3$	$2.2x10^3$	$1.5x10^3$	$4.1x10^3$	$1.3x10^3$	$2.3x10^3$
treatment 4	$1.5x10^2$	$1.7x10^2$	$3.2x10^2$	$3.1x10^2$	$2.7x10^2$	$2.3x10^2$	$1.1x10^2$	$1.4x10^2$
treatment 5	$2.2x10^2$	$3.2x10^2$	$1.5x10^2$	$2.1x10^2$	$1.4x10^2$	$3.5x10^2$	$3.2x10^2$	$3.5x10^2$
treatment 6	$1.3x10^4$	$2.2x10^4$	$2.1x10^5$	$1.4x10^5$	$3.1x10^5$	$2.4x10^5$	$2.7x10^5$	$4.2x10^5$

treatment 1 soil amendment with urea : lime (CaO) at 80 : 800 kg/rai

treatment 2 soil amendment with chlorine powder at 80 kg/rai

treatment 3 soaking of rhizomes in *B. subtilis* mixture before planting and monthly drenching of *B. subtilis* mixture at 50 g/20L of water

treatment 4 treatment 1 + treatment 3

treatment 5 treatment 2 + treatment 3

treatment 6 control