

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันที่เกิดจาก
เชื้อ *Ralstonia solanacearum*
Efficacy of Biological Products of *Bacillus* sp. for Controlling Bacterial Wilt Disease of
Turmeric Caused by *Ralstonia solanacearum*

พรศิลป์ สีเผือก¹, พัชรารณ วาณิชปกรณ์¹ และสกุลรัตน์ หาญศึก¹
Pornsil Seephueak¹, Patcharaporn Vanichpakorn¹ and Sakulrat Hansuek¹
Received date: 13 มี.ค. 67 Revised date: 3 พ.ค. 67 Accepted date: 15 พ.ค. 67
DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.05.28.008>

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวของขมิ้นชันเกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* เป็นโรคที่สำคัญสร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ RUTs001, RUTs002 และ RUTs003 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี paper disc diffusion และในสภาพโรงเรือนทดลองด้วยกรรมวิธีแช่แงขมิ้นชันก่อนปลูกและราดชีวภัณฑ์หลังปลูก ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* RUTs002 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ดีที่สุด การยับยั้งเท่ากับ 85.27 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า กรรมวิธีแช่แงขมิ้นชันก่อนปลูกด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs002 พบการเกิดโรคน้อยสุด เท่ากับ 2.08 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs003 หลังปลูกในสภาพโรงเรือน พบการเกิดโรคน้อยสุด เท่ากับ 52.74 เปอร์เซ็นต์ พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (*R. solanacearum*) พบการเกิดโรค เท่ากับ 30.58 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นสามารถนำชีวภัณฑ์ไปประยุกต์ใช้ในการเพื่อป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขมิ้นชันได้ในสภาพแปลงปลูก

คำสำคัญ: บาซิลลัส ชีวภัณฑ์ โรคเหี่ยว ขมิ้นชัน *Ralstonia solanacearum*

Abstract

The bacterial wilt disease of turmeric caused by *Ralstonia solanacearum* is an important disease with severe economic effects. This research aimed to study the efficacy of *Bacillus* sp. in controlling bacterial wilt disease in turmeric caused by *R. solanacearum*. Three isolates of *Bacillus* sp. namely RUTs001, RUTs002, and RUTs003 were tested in the laboratory using the paper disc diffusion method. Greenhouse experiments involved soaking turmeric rhizomes in *Bacillus* sp. bioproducts before planting and applying the bioproduct directly to the plant. In laboratory tests, it was found that *Bacillus* RUTs002 showed the highest efficacy in inhibiting *R. solanacearum* growth with 85.27% inhibition rate. Furthermore, soaking turmeric rhizomes in *Bacillus* bioproduct before planting resulted in the lowest disease incidence at 2.08%. On the other hand, pouring the bioproduct of *Bacillus* RUTs003 around the turmeric plant in green house conditions showed the lowest disease incidence at 52.74%. These results were significantly different ($P < 0.01$) when compared with the control group (*R. solanacearum*). The disease incidence occurred at 30.58 and 100%, respectively. Therefore, it is possible to apply bioproducts to control the wilt disease of turmeric in the field conditions.

Keywords: *Bacillus*, bioproduct, wilt disease, turmeric, *Ralstonia solanacearum*

¹ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย นครศรีธรรมราช 80240

¹ Plant Science Division, Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat 80240

* Corresponding author: pornsil.s@rmuts.ac.th

คำนำ

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.; Turmeric) เป็นพืชพื้นถิ่นในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae จัดเป็นพืชสมุนไพรล้มลุกอายุหลายปี ลำต้นเหนือดินเป็นลำต้นที่เกิดจากการอัดตัวกันของกาบใบ ลำต้นจริงอยู่ใต้ดิน เรียก เหง้าหรือแงขมิ้นชันประกอบด้วย แง่หลักใต้ดินที่เรียกว่า หัวแม่ มีลักษณะเป็นรูปไข่และแตกแขนงทรงกระบอกออกด้านข้างทั้ง 2 ด้าน (Horticulture Research Institute, 2023) ปัจจุบันเกษตรกรในภาคใต้นิยมปลูกขมิ้นชันมากขึ้น โดยปลูกเชิงเดี่ยว หรือปลูกแซมในสวนยางพาราหรือปาล์มน้ำมันที่ยังไม่ให้ผลผลิต เนื่องจากขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา และถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายทั้งทางตรงและทางอ้อม ได้แก่ เป็นยารักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร โรคกระเพาะ โรคไขข้อ และโรคตับ เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง เช่น ครีมพอกหน้า ครีมบำรุงผิวและผม และใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับประกอบอาหาร เช่น การทำเครื่องแกง เป็นต้น นอกจากใช้บริโภคภายในประเทศแล้ว ปัจจุบันพบว่า ขมิ้นชันของไทยส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ ในลักษณะผลผลิตสดและแปรรูป (Department of International Trade Promotion, 2024) ดังนั้นราคาจำหน่ายในท้องตลาดจึงมีแนวโน้มสูงขึ้น

ปัญหาสำคัญของการปลูกขมิ้นชัน คือ โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* เป็นเชื้อก่อโรคในดิน สร้างความเสียหายอย่างมากต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิด (Karim and Hossain, 2018; Kumar et al., 2014; Smith et al., 1995) เชื้อก่อโรคสามารถเข้าทำลายขมิ้นชันได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต อาการระยะแรกใบขมิ้นชันจะแสดงอาการเหี่ยว ม้วนเป็นหลอดสีเหลือง จากนั้นเชื้อขยายลุกลามจากส่วนด้านล่างในดินไปยังส่วนปลายยอด จนต้นขมิ้นชันแห้งตาย (Khonglah et al., 2015) บริเวณโคนต้นและหน่อมีอาการฉ่ำน้ำ เน่าเป็นสีน้ำตาลถึงสีดำเข้ม หากเฉือนตามขวางจะพบแบคทีเรียโอซ (bacterial ooze) ลักษณะเป็นเมือก สีขาวขุ่น ส่งผลให้ผลผลิตของขมิ้นชันตกต่ำและไม่ได้คุณภาพ ปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดโรคเหี่ยวที่สำคัญ คือ สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ซึ่งมีฝนตกต่อเนื่องและมีน้ำท่วมขังในแปลงปลูก รวมถึงการปลูกขมิ้นชันซ้ำที่เดิม ทำให้เกิดการสะสมของเชื้อโรค การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุสามารถเจริญอยู่ในดินได้ในระยะเวลานาน และสามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้อย่างกว้างขวาง มากกว่า 450 ชนิด และเชื้อสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์หรือส่วนขยายพันธุ์พืชได้ (Kumar et al., 2014) ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการควบคุมโรคเหี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ แนวทางการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวโดยวิธีผสมผสานจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสม สามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ เช่น การหมั่นสำรวจโรค หากพบอาการผิดปกติ ให้รีบเอาออกจากแปลงและเผาทำลาย การรักษาความสะอาดในแปลงปลูก การใช้ท่อนพันธุ์ปลอดโรค การทำความสะอาดวัสดุเครื่องมือการเกษตร การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ รวมถึงการปลูกพืชหมุนเวียน ซึ่งจะช่วยให้การเกิดโรคลดลง อย่างไรก็ตามไม่มีรายงานว่าการเคมีชนิดใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ในสภาพแปลงปลูก (Kositcharoenkul et al., 2014)

แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีการนำมาใช้เพื่อควบคุมโรคพืชอย่างกว้างขวาง สามารถสร้างสารปฏิชีวนะหลายชนิดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช รายงานการวิจัยพบว่า *Bacillus* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* และมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Bangkham and Thummabenjapone, 2021; Kositcharoenkul et al., 2014; Prihatiningsin et al., 2021; Sun et al., 2023) Khonglah et al. (2015) และ Ongena and Jacques (2008) รายงานว่า *Bacillus* spp. สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันและส่งผลให้มีผลผลิตสูงขึ้น โดยที่ Khonglah et al. (2015) รายงานว่า การใช้ปุ๋ยหมักผสมชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ใส่ลงในแปลงปลูก ร่วมกับการแช่แงขมิ้นชันด้วยชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ก่อนปลูก ทำให้ขมิ้นชันเกิดโรคน้อยสุด และจำนวนประชากรเชื้อ *R. solanacearum* ในดินมีแนวโน้มลดลง ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ซึ่งเป็นสายพันธุ์พื้นถิ่น มาประยุกต์ใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชัน ด้วยกรรมวิธีแช่แงขมิ้นชันด้วยชีวภัณฑ์ก่อนปลูก และการราดชีวภัณฑ์หลังปลูก เพื่อให้ทราบวิธีการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวอย่างเหมาะสม เป็นอีกแนวทางหนึ่งของการควบคุมโรคพืชอย่างยั่งยืน ปลอดภัย ต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา

การแยกเชื้อ *R. solanacearum*

เก็บรวบรวมตัวอย่างแงขมิ้นชันจากต้นที่แสดงอาการใบเหี่ยว จากแปลงปลูกของเกษตรกร บ้านร่อนนา อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ล้างฆ่าเชื้อบริเวณผิวแงขมิ้นชันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นใช้ใบมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อปอกผิวรอบนอกออก ล้างแงขมิ้นชันให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที ซับให้แห้ง หั่นขมิ้นชันให้เป็นชิ้นขนาด 0.1 x 0.1 มิลลิเมตร ก่อนนำไปแช่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร

1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที ใช้ลูปและสารแขวนลอยที่ได้ไปขีดเร็ว ๆ (streak) ลงบนอาหาร TZC (tetrazolium chloride agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีสีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพู มาแยกเชื้ออีกครั้งบนอาหาร TZC เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ (Ruangwong and Jaijanthra, 2017) เก็บโคโลนีใส่หลอดทดลอง เก็บไว้ที่ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

การทดสอบความสามารถในการก่อโรค

นำเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร NA (nutrient agar) บ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาทำเซลล์แขวนลอย (cell suspensions) ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปรับระดับความเข้มข้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร (ค่า O.D. เท่ากับ 0.2) (ปริมาณเชื้อ 10^8 cfu/ml) คัดเลือกแ่งเข้มข้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 10 กรัม/แ่ง แ่งในเซลล์แขวนลอยแบบที่เรียกว่าเป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปปลูกลงดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในกระถางพลาสติกขนาด 8 นิ้ว ตรวจสอบการเกิดโรคเหี่ยวของแ่งเข้มข้นและความรุนแรงของการเกิดโรค (ดัดแปลงจาก Kunopagan, 2006) เปรียบเทียบการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรคกับเชื้อ *R. solanacearum* ไอโซเลต 2069 สายพันธุ์ทดสอบอ้างอิง ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จากสถาบันวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย (วว.)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ต่อการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

เชื้อ *Bacillus* ไอโซเลต RUTs001, RUTs002 และ RUTs003 แยกได้จากก้อนเชื้อเห็ดเก่า ซึ่งผ่านการจำแนกและยืนยันจีโนมด้วยเทคนิคทางโมเลกุลแล้วว่าเป็น *Bacillus* sp. (Zulfikar et al., 2018) นำเชื้อแต่ละไอโซเลตมาเลี้ยงบนอาหาร NA โดยวิธี cross streak บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคด้วยวิธี paper disc diffusion โดยอาหาร NA ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นฐาน (basal layer) จากนั้นใช้อาหาร NA ผสมกับเซลล์แขวนลอยของเชื้อก่อโรคที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เทลงบนอาหารที่เตรียมไว้ (ดัดแปลงจาก Yang et al., 2012) วางให้อาหารแข็งตัว นำกระดาษกรอง Whatman No.1 ที่เจาะเป็นวงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แตะลงบนผิวหน้าอาหารที่เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. แต่ละไอโซเลต มาวางบนผิวหน้าอาหาร โดยวางเชื้อ จำนวน 4 ชิ้น/จาน เว้นระยะห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อหลังทดสอบ 7 วัน คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยดัดแปลงจาก Hampl (2021) จากสูตรอัตราส่วนของ inhibition zone = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของเชื้อ/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ negative control วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ทำการทดลอง 5 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ประกอบด้วย *Bacillus* RUTs001, *Bacillus* RUTs002, *Bacillus* RUTs003, คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Copper hydroxide 77% WP) และชุดควบคุม

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันในโรงเรือนทดลอง

การเตรียมดินปลูก ผสมดินสำหรับปลูกแ่งขมิ้นชันตามกรรมวิธีและอัตราส่วนผสมของหลักสูตรพืชศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครราชสีมา ประกอบด้วย หน้าดิน ขุยมะพร้าว ชี้เถ้าแกลบ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1 โดยปริมาตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันสูง (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที บรรจุใส่กระถางพลาสติกขนาด 8 นิ้ว

การเตรียมเชื้อ *R. solanacearum* เลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA เมื่ออายุครบ 48 ชั่วโมง เตรียมเซลล์แขวนลอยในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับระดับความเข้มข้นให้ค่าความขุ่นของเซลล์แขวนลอย เมื่อวัดการดูดกลืนแสง (O.D. เท่ากับ 0.2) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ได้ปริมาณเชื้อ 1×10^8 cfu/ml

การเตรียมชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* RUTs001, *Bacillus* RUTs002 และ *Bacillus* RUTs003 บนอาหาร NA เมื่ออายุครบ 48 ชั่วโมง ละลายเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ นำเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ที่ได้ไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 50 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 5 วัน เก็บตะกอนเซลล์ที่ได้ไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ ในสูตรหลัก 99 กรัม ผสมกับโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (sodium carboxymethyl cellulose; sCMC) 1 กรัม อบให้แห้งและบดให้ละเอียด (Seephueak et al., 2024) นำชีวภัณฑ์ที่เตรียมได้ ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันในสภาพโรงเรือนทดลอง ด้วยวิธีการแ่งขมิ้นชันด้วยชีวภัณฑ์ก่อนปลูก และวิธีการราดชีวภัณฑ์บริเวณรอบต้นขมิ้นชันหลังปลูก ดังนี้

วิธีการที่ 1: การแ่งขมิ้นชันด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ก่อนปลูก คัดเลือกแ่งขมิ้นชันปลอดโรคจากแปลงเกษตรกรให้มีขนาดใกล้เคียงกัน (น้ำหนัก 10 กรัม/แ่ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร) นำไปแช่ในสารละลายชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลตที่เตรียมไว้ อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (ปริมาณเชื้อ 1×10^9 cfu/ g W) ต่อแ่งขมิ้นชัน 10 กิโลกรัม

เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลา นำแ่งขมิ้นชันไปผึ่งลมให้แห้งเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ก่อนนำไปปลูกในดินนึ่งฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ในกระถางพลาสติกขนาด 8 นิ้ว (จำนวน 3 แ่ง/กระถาง) หลังจากปลูกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการปลูกเชื้อด้วยการราดด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อ *R. solanacearum* ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/กระถาง และทำการราดชีวภัณฑ์ *Bacillus* ไอโซเลตต่าง ๆ ซ้ำ หลังปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/กระถาง อัตราความเข้มข้น 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

วิธีการที่ 2: การราดชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. บริเวณรอบต้นขมิ้นชันหลังปลูก ทำการปลูกขมิ้นชันลงดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว เมื่อต้นขมิ้นชันอายุครบ 60 วัน คัดเลือกต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีโรคและแมลงทำลาย มีขนาดต้นใกล้เคียงกัน (จำนวน 3 ต้น/กระถาง) ทำการราดชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/กระถาง บริเวณรอบโคนต้นขมิ้นชัน เมื่อครบเวลา 48 ชั่วโมง ราดเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *R. solanacearum* ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/กระถาง และราดชีวภัณฑ์ *Bacillus* ซ้ำหลังปลูกเชื้อ เช่นเดียวกับวิธีการที่ 1

การวางแผนการทดลอง

การศึกษาทั้ง 2 แบบนี้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 *Bacillus* RUTs001 + *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 2 *Bacillus* RUTs002 + *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 3 *Bacillus* RUTs003 + *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 4 คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Copper hydroxide 77% WP) + *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 5 *R. solanacearum* (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 6 พืชปกติ (ชุดตรวจสอบ)

ตรวจและบันทึกข้อมูลการเกิดโรค ในระยะเวลา 150 วัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (% disease incidence) จากสูตร จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด $\times 100$ (Pimpanuwat, 2021) วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การแยกเชื้อ *R. solanacearum*

ลักษณะอาการของต้นขมิ้นชันที่เป็นโรคเหี่ยว ซึ่งเก็บจากแปลงปลูกขมิ้นชันของเกษตรกรในอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ในระยะแรกสังเกตพบว่า ใบขมิ้นชันเหี่ยว ม้วนเป็นหลอดสีเหลือง และค่อย ๆ ขยายลุกลามจากส่วนล่างขึ้นไปยังส่วนปลายยอดจนแห้งตายทั้งต้น (Figure 1a) บริเวณโคนต้นและหน่อที่แตกออกมาใหม่ มีลักษณะฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเข้มถึงดำ และเน่าเปื่อยหักหลุดออกมาโดยง่าย เมื่อแ่งขมิ้นชันมีสีคล้ำขึ้น จะเปื่อยและมีเมือกสีขาวข้นซึมออกมาตรงรอยแผล (Figure 1b) ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากขมิ้นชันที่แสดงอาการเหี่ยว ด้วยวิธี streak plate บนอาหาร NA พบว่า โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน เอ็ม สีขาวขุ่น คล้ายน้ำมัน (Figure 1c) ส่วนโคโลนีบนอาหาร TZC มีรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ ลักษณะเอ็ม สีขาวขุ่น เช่นเดียวกับบนอาหาร NA แต่ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพู (Figure 1d) ซึ่งสอดคล้องกับ Thongsen (2015) รายงานว่า ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์รุนแรง จะมีลักษณะโคโลนีหนูน เอ็ม ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพู ขอบโคโลนีมีสีขาว ขอบเรียบ เมื่อเลี้ยงบนอาหาร TZC

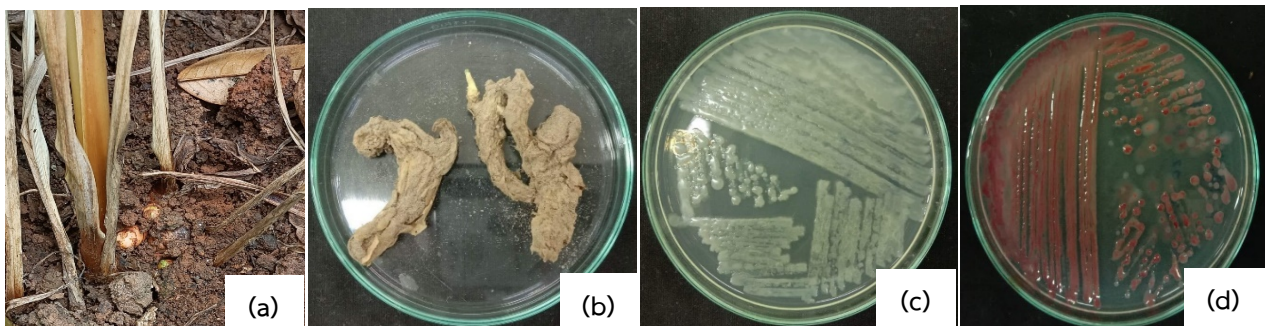


Figure 1 Turmeric wilt disease caused by *R. solanacearum* in planting plot (a), rhizome (b), colonies on NA medium (c), and colonies on TZC medium (d).

ความสามารถของเชื้อ *R. solanacearum* ในการก่อโรคเหี่ยวของขมิ้นชัน

เชื้อ *R. solanacearum* ทำให้แงขมิ้นชันเกิดโรครากเน่าในระยะเวลา 10-14 วัน โดยระยะแรกแงขมิ้นชัน มีลักษณะฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลเข้มถึงดำ สีค่อย ๆ คล้ำขึ้น เปื่อยยุ่ย เน่าและหักหลุดออกมาโดยง่าย และไม่มีการเจริญเติบโต ลักษณะอาการที่พบ เช่นเดียวกับการทดสอบด้วยเชื้อ *R. solanacearum* 2069 สายพันธุ์อ้างอิง ซึ่งพบการเกิดโรครากเน่าอย่างรวดเร็วหลังการปลูกเชื้อ 7-14 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Suwankeereekhan (2003) รายงานผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า ทำให้ปทุมมาแสดงอาการเหี่ยวภายใน 7-14 วัน หลังปลูกเชื้อด้วยวิธีตัดใบ ลักษณะอาการเริ่มแรกหลังการปลูกเชื้อ ใบปทุมมาคู่ล่างเริ่มห่อม้วนเข้า ต่อมาใบบนจะเริ่มเหี่ยวม้วน อาการเหี่ยวเพิ่มขึ้นจนเหี่ยวทั้งต้น ใบมีสีเหลืองซีด บริเวณโคนต้นมีอาการช้ำน้ำ และเน่าเป็นสีน้ำตาล ต้นยุบตัว และแห้งตาย นอกจากนี้ Chomdate (2013) รายงานว่า โรคเหี่ยวของโพลที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* เมื่อตรวจที่ลำต้นจะพบว่า ส่วนที่เป็นท่อน้ำท่ออาหารจะถูกทำลายเป็นสีกัลหรือสีน้ำตาลเข้ม และมีเมือกของแบคทีเรียเป็นของเหลวสีขาวข้นคล้ายน้ำมันซึมออกมาตรงรอยแผล Bangkham and Thummabenjapone (2021) รายงานว่า เชื้อ *R. solanacearum* ที่พบส่วนใหญ่ในประเทศไทยจัดอยู่ใน biovar 3 และ 4 สอดคล้องกับ Kumar et al. (2014) ที่รายงานเชื้อ *R. solanacearum* ที่เข้าทำลายพืชวงศ์ Zingiberaceae ถูกจัดอยู่ใน biovar 3 และ 4 ซึ่งเชื้อที่อยู่ใน biovar 3 จะเข้าทำลายพืชได้รวดเร็วกว่าเชื้อที่อยู่ใน biovar 4 โดยพบว่า เชื้อ *R. solanacearum* biovar 3 ทำให้ *Curcuma aromatica*, *C. caesia* และ *C. longa* เกิดโรครากเน่าในระยะเวลา 5-7 วัน ในขณะที่เชื้อ *R. solanacearum* biovar 4 ทำให้เกิดโรค 14-30 วัน หลังจากปลูกเชื้อ

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบ พบว่า เชื้อ *Bacillus* RUTs002 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้สูงสุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส เท่ากับ 2.89 เซนติเมตร การยับยั้งเท่ากับ 85.27 เปอร์เซ็นต์ (Table 1 และ Figure 2b) รองลงมา คือ *Bacillus* RUTs003, *Bacillus* RUTs001 และ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส เท่ากับ 1.53, 1.24 และ 1.16 เซนติเมตร ตามลำดับ การยับยั้งเท่ากับ 75.32, 71.36, และ 69.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1 และ Figure 2c, 2a และ 2d) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Prasongsap (2016) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 182 ไอโซเลต ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของโพล ด้วยวิธี paper disc diffusion ในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อ *Bacillus* ที่สามารถเจริญแข่งขันและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA ได้ดี มีทั้งหมดจำนวน 17 ไอโซเลต โดยเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีสูงสุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ CMS 1-2, LPS 3-2 และ LPR 1-5 วัดค่าเฉลี่ยความกว้างของโซนใส ได้เท่ากับ 1.80, 1.58 และ 1.58 เซนติเมตร ตามลำดับ

Table 1 The efficiency of the antagonist *Bacillus* spp. in inhibiting the growth of *R. solanacearum* by paper disc diffusion method in laboratory.

Treatments	Clear zone diameter (cm)	Inhibitory growth (%)
1. <i>Bacillus</i> RUTs001	1.24 ^b	71.36 ^b
2. <i>Bacillus</i> RUTs002	2.89 ^a	85.27 ^a
3. <i>Bacillus</i> RUTs003	1.53 ^b	75.32 ^b
4. Copper hydroxide	1.16 ^{bc}	69.96 ^b
5. Control	0.00 ^d	0.00 ^c
C.V. (%)	6.66	9.15
F-test	*	*

* = Mean in the same column followed by different letters were significantly different by Duncan ($P < 0.05$).

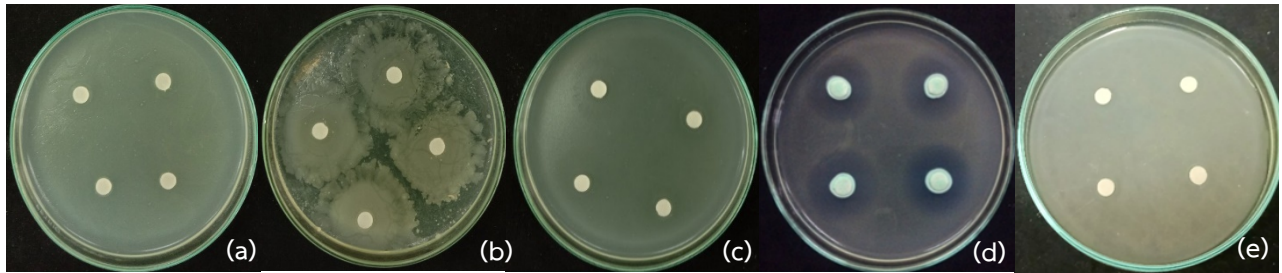


Figure 2 The efficiency of the antagonist bacteria *Bacillus* spp. testing by paper disc diffusion method. *Bacillus* RUTs001 (a), *Bacillus* RUTs002 (b), *Bacillus* RUTs003 (c), copper hydroxide (d), and control (e) *R. solanacearum*.

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันในเรือนทดลอง

เมื่อทดสอบวิธีการแช่แ่งก่อนปลูก พบว่า การแช่แ่งขมิ้นชันด้วยคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ไม่พบการเกิดโรคเหี่ยวตลอดระยะเวลาการปลูก ในขณะที่กรรมวิธีการแช่แ่งขมิ้นชันด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs002, *Bacillus* RUTs001 และ *Bacillus* RUTs003 พบการเกิดโรค 2.08, 8.33 และ 8.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบการเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อที่ระยะเวลา 120, 60 และ 21 วัน ตามลำดับ ในขณะที่พืชปกติ (ชุดตรวจสอบ) และ การใช้เชื้อ *R. solanacearum* (ชุดควบคุม) ขมิ้นชันเกิดโรค 25.00 และ 30.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) โดยพบโรควันที่ 21 หลังการทดสอบ (Table 2)

สำหรับประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันในโรงเรือน เมื่อใช้วิธีการราดชีวภัณฑ์บริเวณโคนต้น พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) กรรมวิธีการราดด้วยคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ พบการเกิดโรคน้อยสุด 47.92 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การราดด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs003, *Bacillus* RUTs002 และ *Bacillus* RUTs001 พบการเกิดโรค เท่ากับ 52.74, 58.33 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3) โดยการเกิดโรคจะเกิดขึ้นรวดเร็ว พบโรค 7 วันหลังการปลูกเชื้อ สอดคล้องกับการศึกษาของ Kositchrenkul et al. (2014) ที่รายงานประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS-DOA 24 ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชันที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ด้วยวิธีการราดชีวภัณฑ์บริเวณโคนต้น พบว่า ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* BS-DOA 24 (ปริมาณเชื้อ 1.1×10^{10} cfu/g) สามารถควบคุมโรคได้ 62-65 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาครั้งนี้ (พบการเกิดโรค 52.74-66.67 เปอร์เซ็นต์) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ชีวภัณฑ์ *Bacillus* ทุกไอโซเลต มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคเหี่ยวของขมิ้นชัน ทั้งในรูปแบบการแช่แ่งก่อนปลูก (การเกิดโรคอยู่ในช่วง 2.08-8.30 เปอร์เซ็นต์) และการราดบริเวณต้นขมิ้นชันหลังปลูก 60 วัน (การเกิดโรค 52.74-66.67 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (*R. solanacearum*) พบการเกิดโรค 30.58 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม วิธีการแช่แ่งขมิ้นชันก่อนปลูกทำให้การเกิดโรคน้อยและช้ากว่าวิธีการราดชีวภัณฑ์ภายหลังการปลูกขมิ้นชัน ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า วิธีการแช่แ่งขมิ้นชันทำให้เชื้อ *Bacillus* สัมผัสกับแ่งขมิ้นชันโดยตรง เชื้อสามารถเข้าไปเจริญร่วมและครอบครองแ่งขมิ้นชันได้ดี จึงสามารถป้องกันการเข้าทำลายจากเชื้อก่อโรคได้ ในขณะที่การราดชีวภัณฑ์ภายหลังปลูกขมิ้นชันไปแล้ว 60 วัน อาจมีเชื้อก่อโรคติดมากับส่วนขยายพันธุ์ การราดชีวภัณฑ์ภายหลังจึงอาจทำให้ไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับการศึกษาของ Na Nan et al. (2015) ที่รายงานว่า แบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลตที่แยกจากดินรากยาสูบ#4 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของโพลที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพโรงเรือนทดลองได้ดีที่สุด เมื่อใช้วิธีการแช่แ่งก่อนปลูก เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 60 เดือน พบการเกิดโรค 2.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลต CMS1-2+ LPS 3-2, ไอโซเลต LPR1-5 และ CMS1-2 + LPS3-2 + LPR1-5 พบการเกิดโรค 2.55, 2.60 และ 2.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Table 2 Disease incidence (%) when using the bioproduct of *Bacillus* sp. to control turmeric wilt caused by *R. solanacearum* through soaking rhizomes before planting.

Treatments	Disease incidence (%)						
	21 days	30 days	45 days	60 days	90 days	120 days	150 days
<i>Bacillus</i> RUTs001	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	4.17±0.03 ^c	4.17±0.03 ^c	8.33±0.13 ^c	8.33±0.13 ^c
<i>Bacillus</i> RUTs002	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	2.08±0.08 ^e	2.08±0.08 ^d
<i>Bacillus</i> RUTs003	2.08±0.08 ^c	2.08±0.08 ^c	2.08±0.08 ^c	4.17±0.02 ^c	4.17±0.02 ^c	6.25±0.05 ^d	8.33±0.13 ^c
Copper hydroxide	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e
<i>R. solanacearum</i> (control)	16.67±0.03 ^a	16.67±0.03 ^a	20.83±0.18 ^a	25.00±0.04 ^a	25.00±0.04 ^a	30.58±0.22 ^a	30.58±0.22 ^a
Normal plant (control checked)	4.17±0.10 ^b	4.17±0.14 ^b	8.33±0.15 ^b	14.58±0.06 ^b	14.58±0.01 ^b	16.67±0.05 ^b	25.00±0.00 ^b
C.V. (%)	1.37	1.62	1.96	0.39	0.27	1.07	1.30
F-test	**	**	**	**	**	**	**

**= Means in a same column followed by the different letters are significantly different by DMRT (P<0.01).

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* สร้างความเสียหายอย่างมากกับพืชปลูก โดยเฉพาะพืชที่มีลำต้นใต้ดินหรือพืชหัว แนวทางการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวให้มีประสิทธิภาพจึงจำเป็นต้องใช้วิธีผสมผสาน จึงจะสามารถลดการเกิดโรคได้ Na Nan et al. (2015) รายงานว่า เชื้อ *B. subtilis* ที่ผ่านการทดสอบว่า สามารถควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* ได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ และในโรงเรือนทดลอง ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ในสภาพแปลงทดลอง ทั้งนี้ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรค การเกิดโรคจะเกิดอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยว โดยที่ Jijuban et al. (2021) รายงานว่า การผลิตขิงโดยใช้หัวพันธุ์ปลอดโรค ร่วมกับการจัดการดินและการใช้เชื้อชีวภัณฑ์ *B. subtilis* -DOA 24 แซ่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก จะทำให้ขิงมีผลผลิตเพิ่มขึ้น การเกิดโรคลดลง และสามารถปลูกซ้ำได้ในพื้นที่เดิมนาน 3 ปี เชื้อ *Bacillus* spp. นอกจากมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืชแล้ว ยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Bangkham and Thummabenjapone, 2021; Khonglah et al., 2015) สอดคล้องกับการวิจัยของ Hansuek et al. (2024) ซึ่งเป็นหนึ่งในทีมนักวิจัย ที่ทำการศึกษาชนิดของท่อนพันธุ์ร่วมกับชีวภัณฑ์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของขิงมันชัน ด้วยการแช่ท่อนพันธุ์ขิงมันชัน เป็นเวลา 60 นาที ก่อนนำปลูกในสภาพแปลงปลูก พบว่า ท่อนพันธุ์ขิงมันชันที่แช่ด้วยชีวภัณฑ์ ทำให้มีการงอกสูงสุด 70.40 เปอร์เซ็นต์ ดัชนีความเร็วของการงอกเท่ากับ 7.25 เวลาเฉลี่ยการงอกดีสุด 22.50 วัน และมีจำนวนต้นต่อกอสูงสุด 4.30 ต้น โดยหลังปลูก 3 เดือน ไม่พบการเกิดโรคเหี่ยว

Table 3 Disease incidence (%) when using the bioproduct of *Bacillus* sp. to control turmeric wilt caused by *R. solanacearum* through the pouring method.

Treatments	Disease incidence (%)						
	7 days	15 days	30 days	60 days	90 days	120 days	150 days
<i>Bacillus</i> RUTs001	14.06±0.02 ^c	11.11±0.67 ^d	33.33±0.29 ^b	47.92±0.10 ^b	49.25±0.08 ^b	50.01±0.01 ^b	66.67±0.08 ^b
<i>Bacillus</i> RUTs002	5.20±0.13 ^d	12.15±0.19 ^c	18.75±0.08 ^d	41.67±0.00 ^c	47.92±0.07 ^c	47.92±0.04 ^c	58.33±0.10 ^c
<i>Bacillus</i> RUTs003	15.63±0.19 ^b	15.63±0.08 ^b	28.65±0.10 ^c	38.19±0.08 ^d	41.67±0.18 ^d	43.75±0.06 ^d	52.74±0.03 ^d
Copper hydroxide	0.69±0.01 ^e	0.69±0.02 ^e	4.43±0.14 ^f	37.50±0.14 ^e	38.19±0.11 ^e	41.67±0.08 ^e	47.92±0.02 ^e
<i>R. solanacearum</i> (control)	49.65±0.25 ^a	57.29±0.01 ^a	41.67±0.08 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
Normal plant (control checked)	0.00±0.00 ^f	0±0.00 ^f	7.75±0.03 ^e	13.67±0.08 ^f	15.92±0.04 ^f	17.25±0.09 ^f	26.33±0.02 ^f
C.V. (%)	0.97	1.77	0.65	1.18	0.20	0.12	0.09
F-test	**	**	**	**	**	**	**

**= Means in a same column followed by the different letters are significantly different by DMRT (P<0.01).

สรุปผลการศึกษา

ชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs002 มีประสิทธิภาพสูงสุด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการและสภาพโรงเรือนด้วยวิธีการแช่แ่งงมื่นชั้นก่อนนำไปปลูก พบการเกิดโรคช้าและน้อยกว่าการแช่แ่งงมื่นชั้นด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs001 และ *Bacillus* RUTs003 ส่วนวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ราดบริเวณต้นขมื่นชั้นหลังปลูก พบว่า กรรมวิธีราดด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs003 พบการเกิดโรคน้อยกว่าการใช้ชีวภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ อย่างไรก็ตามในอนาคต ควรศึกษาเพิ่มเติมการประยุกต์ใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs002 แช่แ่งงมื่นชั้นก่อนปลูกร่วมกับการราดด้วยชีวภัณฑ์ *Bacillus* RUTs003 หลังปลูก เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงปลูก รวมถึงศึกษาปริมาณและคุณภาพของผลผลิตขมื่นชั้น และติดตามจำนวนประชากรของเชื้อ *Bacillus* spp. ในดินหลังการใช้ เพื่อให้สามารถจัดการโรคเหี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2566 ขอขอบคุณสำนักงานเกษตรอำเภอรัตนบุรี จังหวัดนครราชสีมา สำหรับความร่วมมือและช่วยเหลือในการลงพื้นที่ทำวิจัย

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และ สมมติฐาน: พรศิลป์ สีเผือก, พัชราภรณ์ วาณิชยปกรณ์, สกฤตน์ หาญศึก. การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูล และ criteria: พรศิลป์ สีเผือก. การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: พรศิลป์ สีเผือก, พัชราภรณ์ วาณิชยปกรณ์, สกฤตน์ หาญศึก. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดง การเปรียบเทียบกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: พรศิลป์ สีเผือก. การมีส่วนร่วมในการเขียน manuscript: พรศิลป์ สีเผือก.

เอกสารอ้างอิง

- Bangkham, T., & Thummabenjapone, P. (2021). Screening of antagonistic bacteria for control bacterial wilt disease and promote growth of pepper seedling. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49(6), 1502-1514. (in Thai).
- Chomdate, T. (2013). *Identification and Pathogenicity Test of Ralstonia solanacearum Isolated from Cassumunar (Zingiber montanum)*. Master's Thesis. Kasetsart University. (in Thai).
- Department of International Trade Promotion. (2024). *Trade opportunities for turmeric products in India*. Retrieved from: https://www.ditp.go.th/contents_attach/817496/817496.pdf. (in Thai).
- Jijuban, J., Intrakraw, W., Insung, L., & Jarinthorn, S. (2021). Testing disease-free ginger production technology and transferring in farm conditions. *Journal of Agricultural Production*, 3(1), 13-23. (in Thai).
- Hampl, A. (2021). *Plant Products to Control Ralstonia solanacearum Causing Bacterial Wilt in Tomatoes (Solanum lycopersicum) in Kenya*. Master's Thesis. Swedish University of Agriculture Science.
- Hansuek, S., Seephueak, P., & Bootkote, P. (2024). Study on types of seed rhizome with bio-product on germination of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Khon Kaen Agriculture Journal Supplementary*, 52(1), 348-354. (in Thai).
- Horticulture Research Institute. (2023). *Curcuma longa* L. Department of Agriculture. Retrieved from: <https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2023/02/เอกสารวิชาการ-ขมื่นชั้น-กลุ่มวิชาการ-สวส.pdf>. (in Thai).
- Karim, Z., & Hossain, M. S. (2018). Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potato: focus on natural bioactive compounds. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management*, 4(1), 73-92.
- Khonglah, D., Majaw, S. P., Kayang, H., & Rao, M. S. (2015). Efficacy of bioformulations of indigenous bacterial bioagents strains against bacterial wilt of *Curcuma longa* L. *Journal of Agricultural Technology*, 11(7), 1523-1533.
- Kositcharoenkul, N., Puawongphat, B., Kanhayart, T., & Thongkreng, R. (2014). Development bioproduct from *Bacillus subtilis* BS-DOA 24 strain for controlling bacterial wilt of ginger (*Ralstonia solanacearum*). *Thai Agriculture Research Journal*, 32(3), 234-251. (in Thai).

- Kunopagan, J. (2006). **Growth Inhibition of Microbes Causing Wilt in *Curcuma alismatifolia* by Antagonistic Bacteria**. Master's thesis. Chiang Mai University. (in Thai).
- Kumar, A., Prameela, T. P., Suseelabhai, R., Siljo, A., Anandaraj, M., & Vinatzer, B. A. (2014). Host specificity and genetic diversity of race 4 strains of *Ralstonia solanacearum*. **Plant Pathology**, 63(5), 1138-1148.
- Na Nan, S., Jaiteng, A., Vorapitirangsi, S., Prasongsap, S., & Chingdung, S. (2015). **Select and Test the Effectiveness of Antagonist Microorganism in Controlling to Bacterial Wilt of *Zingiber cassumunar* Roxb. (Phlai)**. Retrieved from: <https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2428>. (in Thai).
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends Microbiology**, 16(3), 115-125.
- Pimpanuwat, P. (2021). **Investigating the Potential of Actinobacteria to Prevent Disease and Promoting the Growth of Citrus**. Master's Thesis. Naresuan University. (in Thai).
- Prasongsap, S. (2016). **Research and Development of Sustainable Product Plai: *Zingiber cassumunar* Roxb.** Department of Agriculture. Retrieved from: <https://tarr.arda.or.th/preview/item/6olobn9Ynm8EJGI21xDOg> (in Thai).
- Prihatiningsin, N., Asnani, A., & Djatmiko, H. A. (2021). Extracellular protease from *Bacillus subtilis* B315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili. **Biodiversitas**, 22(3), 1291-1295.
- Ruangwong, O. U., & Jaijantra, B. (2017). Using of soil actinomycetes to inhibit *Ralstonia solanacearum* causal agent of tomato wilt disease. **Journal of Agriculture**, 33(1), 49-59. (in Thai).
- Smith, J. J., Offord, L. C., Holderness, M., & Saddler, G. S. (1995). Genetic diversity of *Burkholderia solanacearum* (Synonym *Pseudomonas solanacearum*) race 3 in Kenya. **Applied Environmental Microbiology**, 61(12), 4263-4268.
- Sun, Y., Su, Y., Meng, Z., Zhang, J., Zheng, L., Miao, S., Qin, D., Ruan, Y., Wu, Y., Xiong, L., Yan, X., Dong, Z., Cheng, P., Shao, M., & Yu, G. (2023). Biocontrol of bacterial wilt disease in tomato using *Bacillus subtilis* strain R31. **Frontiers Microbiology**, 14, 1281381. <https://pdfs.semanticscholar.org/1b87/e35cafaa78c030fc114fc9c5afe36a42aa97.pdf>
- Seephueak, P., Noochaikaw, W., Srimai, W., Maneeon, A., & Vanichpakorn, P. (2024). Efficacy of bioproduct of *Bacillus* spp. for growth and control green mold disease of gray oyster mushrooms caused by *Trichoderma hamatum*. **Khon Kaen Agriculture Journal**, 52(suppl. 1), 383-391. (in Thai).
- Suwankeereeekhan, J. (2003). **Seed and Soil Treatment to Control Bacteria Wilt in Patumma Caused by *Ralstonia solanacearum***. Master's Thesis. Kasetsart University. (in Thai).
- Thongsen, N. (2015). **Race Identification of *Ralstonia solanacearum* Causing Wilt of Eucalyptus and Its Management**. Master's Thesis. Kasetsart University. (in Thai).
- Yang, Y., Li, X. M., Sun, Z. H., Yang, T., Tan, Z. L., Wang, B. F., Han, X. F., & He, Z. X. (2012). The growth performance and meat quality of goats fed diets based on maize or wheat grain. **Journal of Animal and Feed Sciences**, 21(4), 587-598.
- Zulfikar, A., Nur Layla, I., Preecha, C., Seephueak, W., & Seephueak, P. (2018). Use of antagonistic bacteria from spent mushroom compost for controlling damping-off cause by *Fusarium solani* in tomato. In **Proceedings of the 6th Asian Academic Society International Conference (AASIC)**, pp. 630-638. Mae Fah Luang University.