

ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อ
ป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาว

The Appropriate Rate and Duration of Biological Product from *Bacillus subtilis* for
Control Lime Canker

นางนลินี ศิวากรณ์^{๑/} นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์^{๑/} นายวสันต์ ผ่องสมบุญ^{๒/}

บทคัดย่อ :

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูก ตำบลมหาสวัสดิ์ อำเภอสทิงพระ จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย ๓๑.๔๗% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๓๐ กรัม ผลมะนาวร่วงก่อนการเก็บเกี่ยวขนาดผลจึงมีขนาดเล็กทำให้น้ำหนักผลที่ได้ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผงเชื้อ แสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๓๙.๙๔% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๙๐ กรัม และทรงต้นที่สมบุญ ไบมีขนาดใหญ่สีเขียวเข้ม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๔๓.๕๓% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๓ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๔๐ กรัม และกรรมวิธีเปรียบเทียบน้ำ (Control) แสดงความรุนแรงของการเกิดโรค ๕๔.๐๒% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๗๐ กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผงทำให้ผลผลิตมีขนาดใหญ่ผลไม่ร่วงก่อนถึงระยะเก็บเกี่ยวทรงต้นสมบุญแข็งแรงใบมีสีเขียวเข้มจึงนับได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผงเชื้อมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้

การศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N๕๑๐๒ เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) ในแปลงปลูกอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ดีที่สุดโดยแสดงระดับคะแนนการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย ๒.๓ รองลงมาได้แก่การใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ อัตรา ๑๐ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร และ ๕ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร โดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย ๒.๔ และ ๒.๕ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ (น้ำ) แสดงคะแนนการเกิดโรคสูงสุดเฉลี่ย ๓.๓ ส่วนระยะเวลาในการฉีดพ่นทุก ๗ วัน ไม่มีความแตกต่างกับการฉีดพ่นทุก ๑๔ วัน

^{๑/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{๒/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

๑. คำนำ โรคแคงเกอร์ของมะนาวมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถเข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือพื้นดิน ตั้งแต่ ใบ กิ่งก้าน ผล และสามารถอาศัยอยู่บนต้นมะนาวได้ทุกฤดู โดยมากมักพบระบาดรุนแรงในฤดูฝน ลักษณะอาการของโรคที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลจุดสะเก็ดสีน้ำตาล ทำให้ใบร่วง การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย ทำให้ผลมีตำหนิมากไม่เป็นที่ต้องการของตลาด คุณภาพของผลผลิตตกเกรด การป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพโดยตรงต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารประกอบคอปเปอร์ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราฉีดพ่นคลุมต่อเนื่องเป็นประจำ ทำให้ระบบนิเวศวิทยาถูกทำลายและมีสารประกอบคอปเปอร์ตกค้างในผลผลิต บางครั้งเกษตรกรก็ใช้ยาปฏิชีวนะกับโรคแคงเกอร์ทำให้เกิดการสะสมของยาในผลผลิตซึ่งจะทำให้มนุษย์ได้รับสารปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็นอันอาจทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคในระยะที่เกิดการเจ็บป่วยได้ ซึ่งก็เป็นอันตรายที่จะแนะนำให้เกษตรกรนำยาปฏิชีวนะมาใช้ในทางการเกษตร ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวจึงได้หันมาศึกษาด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชซึ่งได้มีการศึกษากันมามีหลายชนิดได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส เชื้อรา และสัตว์ชนิดเล็กที่กินจุลชีพเป็นอาหาร เช่น โปรโตซัว ไส้เดือนฝอย และไร แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุดในการควบคุมโรคพืชเนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วและย่อยสลายอาหารได้กว้างในสภาพแตกต่างกันทั้งยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Kenneth and Cock, ๑๙๘๒) นลินีและคณะ(๒๕๒๘) พบว่าเชื้อ actinomycetes ที่แยกได้จากดินในท้องที่ต่างๆ สามารถสร้างปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโรคพืชได้หลายชนิด นลินีและคณะ (๒๕๓๔) พบว่า *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งของข้าวจาก ๙๔% เป็น ๑๙% และจากการศึกษาการควบคุมโรคแคงเกอร์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในแปลงทดลองที่จังหวัดอุตรดิตถ์พบว่า เชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่แยกได้และนำมาจำแนกชนิดด้วยวิธี ๑๖S rDNA นี้มีลำดับเบสที่ตรงกับ *B. subtilis* strain WD๒๐ และผงเชื้อจุลินทรีย์นี้สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเท่ากับ ๒๕.๖๑% ซึ่งไม่แตกต่างกับการฉีดพ่นในรูปเชื้อสดที่เลี้ยงจากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรงให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ ๒๖.๖๒% แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ ๕๑.๗๔% และกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ฉีดพ่นด้วยน้ำให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ ๕๔.๐๒%(นลินีและคณะ, ๒๕๕๓) ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวเพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพร้อมทั้งนำสูตรน้ำมาทดสอบประสิทธิภาพและหาอัตราที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการแนะนำแก่เกษตรกรในการจัดการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว โดยการดัดแปลงหรือพัฒนาให้มีความเหมาะสมต่อสภาพการผลิตมะนาว อันจะเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถเลือกและเพิ่มมูลค่าของผลผลิตที่ปราศจากพืชตกค้าง

๒. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

๑. แปลงปลูกมะนาวที่ ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม และ อ.บ้านแพ้ว จ.นครปฐม
๒. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* N๕๑๐๒
๓. สารจับใบ และสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ๗๗% WP.
๔. กล้องจุลทรรศน์, เครื่องแก้ว, ตาซัง, เครื่องเขย่า
๕. ผงทัลคัม, เมทิลเซลลูโลส, แมกนีเซียมซัลเฟต

๖. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA, PDA, PSB และ PDB

- วิธีการ

๑. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอสายยา จังหวัดนครปฐม

๑.๑ การเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปน้ำหมัก *B. subtilis* N ๕๑๐๒ โดยเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ ในอาหารเหลวPSB จำนวน ๑ ลิตร เป็นเวลา ๑๐ วันในเครื่องเขย่าความเร็ว ๑๕๐ รอบต่อนาที จากนั้นใส่ในถังหมักขนาด ๖๐ ลิตรโดยผสมด้วยน้ำมันฝรั่ง ๔ ลิตรและกากน้ำตาล ๔๐๐ มล.และน้ำ ๑๕ ลิตร หมักไว้เป็นเวลา ๑ เดือน

๑.๒ การเตรียมผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ขั้นตอนกรรมวิธีการผลิตชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชโดยนำเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ใส่ในขวดที่มีอาหาร PDB จำนวน ๒๕๐ มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็วอัตรา ๑๕๐ รอบ/นาที เป็นเวลา ๒-๗ วัน หลังจากนั้นใส่แมกนีเซียมซัลเฟต จำนวน ๓ กรัมแล้วเขย่าต่อไป นำสารเมทิลเซลลูโลสจำนวน ๖.๒๕ กรัม ผสมน้ำร้อน ๒๕๐ มิลลิลิตรแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และทิ้งให้เย็นจึงนำไปผสมกับขวดที่เลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ อัตราส่วน ๑:๑ โดยปริมาตรแล้วใช้ช้อนคนเพื่อให้สารละลายของเชื้อและเมทิลเซลลูโลสเข้ากัน ทิ้งไว้ ๒๐ นาที จึงนำไปผสมกับผงทัลคัมที่อบฆ่าเชื้อแล้วจำนวน ๑-๑.๑ กิโลกรัม เมื่อส่วนผสมทั้งสองรวมเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว จึงนำไปเทใส่ในภาชนะหรือตระกร้าที่สะอาดที่มีแผ่นฟรอยด์รองปิดกันและด้านข้าง โดยเทบางๆให้ทั่ว แล้วนำไปผึ่งให้แห้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๔-๕ วันหรือจนเป็นก้อนแข็งและแห้ง จึงแกะออกจากแผ่นฟรอยด์หักเป็นชิ้น ๆ แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นเก็บใส่ถุงพลาสติกที่มีซิปปหรือกระป๋องพลาสติกที่มีฝาปิดแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ ๑๘°C.

๑.๓ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ บนต้นมะนาว

๑.๓.๑ การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบRCBมี ๔ กรรมวิธี ๕ ซ้ำ ๕ ซ้ำ ๑ ต้น ดังนี้

๑. ฉีดพ่นด้วยน้ำหมักจากเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่เตรียมไว้ในข้อ ๑ มาผสมน้ำอัตรา ๘๐ มล.ต่อ น้ำ ๒๐ ลิตร

๒. ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ที่เตรียมไว้ในข้อ๒ อัตรา ๒๕๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

๓. ฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ อัตรา ๓๐ กรัม/น้ำ ๒๐ ลิตร

๔. ฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

๑.๓.๒ การปฏิบัติการทดลอง นำสารละลายตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ๓.๑ ผสมสารจับใบอัตรา ๕ มล./น้ำ ๒๐ ลิตร แล้วนำไปฉีดพ่นบนต้นมะนาวแต่ละต้นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ในแต่ละต้นและกำหนดผลมะนาวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๕ มม.อายุผลมะนาว ๒ สัปดาห์ถึง ๑ เดือนและไม่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อเป็นตัวแทนในการตรวจการเกิดโรคในแต่ละต้นจำนวน ๓๐ ผล/ต้น โดยฉีดพ่นทุกสัปดาห์ด้วยถังฉีดยาแบบติดเครื่องยนต์สะพายหลังจนถึงระยะแก่เต็มที่ที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เป็นเวลา ๓ เดือน(ผลมะนาวมีระยะตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวเป็นเวลา ๕ เดือน)

๑.๓.๓ การบันทึกข้อมูล ตรวจและประเมินให้คะแนนความรุนแรงระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์บนผลมะนาวในแต่ละผลตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (๑๙๗๑) ดังนี้ (ภาพที่๑)

- ๑ = ไม่พบเกิดโรคแคงเกอร์
- ๒ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๑-๕ %ของพื้นที่รอบผล
- ๓ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๕- ๑๐ %ของพื้นที่รอบผล
- ๔ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๑๑-๒๕ %ของพื้นที่รอบผล
- ๕ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๒๖-๕๐ %ของพื้นที่รอบผล
- ๖ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๕๑-๗๕ %ของพื้นที่รอบผล
- ๗ = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ ๗๖-๑๐๐ %ของพื้นที่รอบผล

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคตามวิธีของ Horsfall and Heuberger (๑๙๔๒) ดังนี้

$$\text{ความรุนแรงของการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับ } \times \text{ จำนวนผลของแต่ละระดับ)}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด } \times \text{ ระดับสูงสุด}} \times ๑๐๐$$

และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ

๒. ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

๒.๑ การเตรียมผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ โดยใช้เข็มเย็บหัวกลมเย็บเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่เลี้ยงในหลอดอาหาร PSA จำนวน ๑ loop มาใส่ในอาหารเหลว PSBที่บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด ๕๐๐ มล. แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว ๑๔๕-๑๕๐ รอบ/นาที่เป็นเวลา ๓-๕ วัน จากนั้นจึงเติมแมกนีเซียมซัลเฟตและเมททิลเซลลูโลสลงไปในช่วงเลี้ยงเชื้อ กวนให้เข้ากัน นำส่วนผสมทั้งหมดค่อย ๆ เทใส่ลงในผงทัลคัมที่อบฆ่าเชื้อแล้วผสมให้เข้ากันและนำมาเทใส่ถาดที่วางรองด้วยอลูมิเนียมฟอยล์เกลี่ยให้เรียบและผึ่งไว้จนแห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ ๓-๔ วัน แล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียด(ภาพที่๒)

๒.๒ การทดสอบอัตราและระยะเวลาในการใช้ผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒ ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์บนต้นมะนาว

๒.๒.๑ การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB มี ๕ กรรมวิธี ๕ ซ้ำ ๕ ซ้ำ ๓ ผล ประกอบด้วย ๒ ปัจจัย ดังนี้

๑. ฉีดพ่นบนผลมะนาวด้วยกรรมวิธีต่างๆ คือ

๑.๑ ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่เตรียมไว้ในข้อ ๑ อัตรา ๑ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร

๑.๒ ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่เตรียมไว้ในข้อ ๑ อัตรา ๕ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร

๑.๓ ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ที่เตรียมไว้ในข้อ ๑ อัตรา ๑๐ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร

๑.๔ ฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์ไฮดรอกไซด์ อัตรา ๑๐ กรัม/น้ำ ๑ ลิตร

๑.๕ ฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

๒. ระยะเวลาการฉีดพ่น คือ

๒.๑ ฉีดพ่นทุก ๗ วัน

๒.๒ ฉีดพ่นทุก ๑๔ วัน

๒.๒.๒ การปฏิบัติทดลอง นำสารละลายตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ ๒.๒.๑ ผสมสารจับใบอัตรา ๒ หยด/น้ำ ๒๐ มล. แล้วนำไปฉีดพ่นบนผลมะนาวแต่ละต้นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ในแต่ละผลและกำหนดผลมะนาวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๕ มม. อายุผลมะนาว ๒ สัปดาห์และไม่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อเป็นตัวแทนในการตรวจการเกิดโรคในแต่ละผลจำนวน ๓ ผล/ต้น และฉีดพ่นตามกรรมวิธีที่วางไว้จนถึงระยะแก่เต็มที่สามารรถเก็บเกี่ยวได้เป็นเวลา ๓ เดือน (ผลมะนาวมีระยะตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวเป็นเวลา ๕ เดือน) โดยมีกรรมวิธีการฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ (ภาพที่ ๓)

๒.๒.๓ การบันทึกข้อมูล ตรวจสอบและประเมินให้คะแนนความรุนแรงระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์บนผลมะนาวในแต่ละผลตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (๑๙๗๑) เช่นเดียวกับข้อ ๑.๓.๓

- เวลาและสถานที่

- มกราคม ๒๕๕๔ – กันยายน ๒๕๕๖
- ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงมะนาวของเกษตรกร ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม และ อ.บ้านแพ้ว

จ.สมุทรสาคร

๓. ผลการทดลองและวิจารณ์

๑. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมัก และผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๓๑.๔๗% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๓๐ กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผงเชื้อ แสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๓๙.๙๔% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๙๐ กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๔๓.๕๓% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๓ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๔๐ กรัม และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) แสดงความรุนแรงของการเกิดโรค ๕๔.๐๒ % ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดต่าง ๒.๓๒ และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๗๐ กรัม (ตารางที่๑) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนการเกิดโรคนผลต่ำที่สุดแต่ให้น้ำหนักผลที่ต่ำที่สุดโดยผลมะนาวมีขนาดเล็กเนื่องจากการใช้สารเคมีทำให้ต้นมะนาวในผลที่เกิดโรคร่วงก่อนกำหนดและข้อผลในแต่ละข้อจะมีผลทยอยเกิดขึ้นใหม่ทดแทนผลที่ร่วงไปทำให้ผลใหม่มีขนาดเล็กจึงทำให้น้ำหนักของผลน้อยและการประเมินระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นบนผลก็จะต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คะแนนการเกิดโรคที่เกิดขึ้นจึงประเมินจากข้อเดิมแต่มีได้เกิดจากอายุของผลที่มีขนาดอายุที่เท่ากัน ดังนั้นการใช้สารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์จึงไม่ใช่กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆที่ทดสอบ การใช้น้ำหมักที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาลซึ่งเป็นอาหารและเป็นประโยชน์ทั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ และเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคจึงทำให้ความรุนแรงของการเกิดโรคแคงเกอร์สูง แต่คะแนนการเกิดโรคที่เกิดขึ้นก็ต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ส่วนการใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ผลมะนาวจะติดอยู่บนต้นนาน ต้นมีความสมบูรณ์ใบมีสีเขียวเข้มและมีขนาดใหญ่ ผลผลิตมีขนาดใหญ่กว่าปกติทำให้น้ำหนักผลมะนาวสูงกว่ากรรมวิธีอื่น(ภาพที่๔)

เนื่องจากแปลงมะนาวของเกษตรกรที่ ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม ได้ถูกอุทกภัยน้ำท่วมสูงจนทำให้ต้นมะนาวตายหมดทั้งแปลงปลูกจึงต้องย้ายสถานที่ทำการทดลองไปยังแปลงเกษตรกร อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาครซึ่งไม่ประสบปัญหาน้ำท่วม ต้นมะนาวที่ ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม ต้นมะนาวมีลักษณะพันธุ์ผลเป็นพวงในแต่ละข้อเป็นพันธุ์แป้นพวงและเป็นพันธุ์เดียวกันหมดทั้งแปลง ดังนั้นแต่ละกรรมวิธีจึงใช้มะนาวต้นใดก็ได้ในแปลงปลูก ส่วนแปลงใน อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร ลักษณะของต้นมะนาวแต่ละต้นมีความแตกต่างระหว่างพันธุ์และโดยมากจะเป็นพันธุ์ที่มีผลเดี่ยวๆ ดังนั้นการวางแผนการทดลองในการศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร จึงต้องเปลี่ยนไปจากเดิมเพื่อไม่ให้ความ

แตกต่างกันระหว่างต้นและพันธุ์มาเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการคาดเคลื่อนของระดับคะแนนการเกิดโรค จึงต้องวางแผนให้ทุกกรรมวิธีต้องรวมอยู่ในต้นเดียวกัน กรรมวิธีละ ๑ ผลต่อต้นและมีจำนวนต้น(ซ้ำ)มากและให้คะแนนเป็นระดับการเกิดโรคโดยไม่ได้นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยต่อซ้ำ

๒. การศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร จากการทดลองพบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย ๒.๒ เมื่อพ่นทุก ๗ วันและคะแนนเฉลี่ย ๒.๔ เมื่อพ่นทุก ๑๔ วัน การฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ อัตรา ๕ กรัม/ลิตรและ ๑๐ กรัม/ลิตร แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๒.๔ เมื่อพ่นทุก ๗ วันและคะแนนเฉลี่ย ๒.๖ เมื่อพ่นทุก ๑๔ วัน ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ ส่วนการฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ อัตรา ๑ กรัม/ลิตร แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๒.๘ เมื่อพ่นทุก ๗ วัน และคะแนนเฉลี่ย ๒.๖ เมื่อพ่นทุก ๑๔ วัน กรรมวิธีการฉีดพ่นด้วยน้ำซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะนาว แสดงการเกิดโรคแคงเกอร์สูงที่สุดโดยแสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๓.๓ เมื่อพ่นทุก ๗ วัน และคะแนนเฉลี่ย ๓.๒ เมื่อพ่นทุก ๑๔ วัน (ตารางที่ ๒)

๔. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ จากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ในรูปผงให้ประสิทธิภาพในด้านการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวและขนาดน้ำหนักของผลผลิตสูงทรงต้นที่สมบูรณ์ ใบมีขนาดใหญ่สีเขียวเข้ม โดยมีคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคแคงเกอร์ ๓๙.๙๔% น้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๙๐ กรัม ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งฉีดพ่นด้วยน้ำแสดงความรุนแรงของการเกิดโรค ๕๔.๐๒ %และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๗๐ กรัม ส่วนสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย ๓๑.๔๗%และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ๑๐ ผลเท่ากับ ๓๓๐ กรัม ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อแม่คะแนนการเกิดโรคแคงเกอร์ไม่แสดงค่าต่ำที่สุดแต่ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต้นสมบูรณ์แข็งแรง ส่วนการศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N๕๑๐๒ เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ดีที่สุดโดยแสดงระดับคะแนนการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย ๒.๓ รองลงมาได้แก่การใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* อัตรา ๕ กรัม/น้ำ ๑ ลิตรและ ๑๐ กรัม/น้ำ ๑ ลิตรโดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย ๒.๕ และ ๒.๔ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำ)แสดงคะแนนการเกิดโรคสูงสุดเฉลี่ย ๓.๓ ส่วนระยะเวลาในการฉีดพ่นทุก ๑๔ วันไม่มีความแตกต่างกับเมื่อฉีดพ่นทุก ๗ วัน ซึ่งจากการทดลองยังไม่มีสารชนิดใดที่สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ให้หายไปจากสวนได้ยังคงต้องใช้วิธีการป้องกันกำจัดโรคอื่น ๆ ร่วมกันเช่น การใช้วิธีการเขตกรรมโดยการตัดแต่งกิ่งที่เป็นโรคและนำออกจากแปลงปลูกไปเผาทำลายเพื่อลดปริมาณแหล่งสะสมของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคแคงเกอร์

๕. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ เผยแพร่และตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการนานาชาติ เรื่อง "Green Aggie: International Conference on Natural Products in Agriculture" ระหว่างวันที่ ๑๗-๒๑ พฤศจิกายน ๒๕๕๖ ณ ตึกวิชธานุสรณ์ คณะเกษตร โดยได้ส่งผลงานวิจัยเพื่อเผยแพร่ในการประชุมนี้ในภาคโปสเตอร์จำนวน ๑ เรื่อง "The Potential of *Bacillus subtilis* strain N๕๑๐๒ in Controlling Charcoal Rot Disease of Sunflower, Citrus Canker, Root Rot and Foot Rot of Pomelo and Durian, and Promoting the Growth of Plants"

๖. เอกสารอ้างอิง

นลินี ศิวากรณ์ สุเนตรา ภาวิจิตร วินิตา ฐิตะฐาน และสำเนา ศรุตานนท์ ๒๕๒๘. การศึกษาปฏิชีวนภาพของเชื้อ Actinomycetes ในดินต่อเชื้อแบคทีเรียโรคพืช. หน้า ๓๐๑-๓๑๑. ใน: รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. ๒๕๒๘. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.

นลินี จาริกภากร ภาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด พิรุณ จันทนกุล เอนกชัย. ๒๕๓๔. การป้องกันกำจัดโรคข้าวโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*. หน้า ๒๕๗-๒๗๒. ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการความก้าวหน้าเทคโนโลยีชีวภาพการกลีกรวมและสิ่งแวดล้อม ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ จ. เชียงใหม่

นลินี ศิวากรณ์ รุ่งนภา คงสุวรรณ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. ๒๕๕๓. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ. หน้า ๒๖๑๔-๒๖๒๙. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๓. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Kenneth, F.B., and R.J. Cock. ๑๙๘๒. Biological control of plant pathogens. Publish by The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. ๔๓๓ pp.

๗. ภาคผนวก

ตารางที่ ๑ ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* ๕๑๐๒ ต่อโรคแคงเกอร์บนผลมะนาว

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ย % การเกิดโรค	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำมะนาว	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักผล /๑๐ ลูก (กรัม)
น้ำหมักจากเชื้อ <i>B. subtilis</i>	๔๓.๕๓bc	๒.๓๓	๓๔๐
ผงเชื้อ <i>B. subtilis</i>	๓๙.๙๔ b	๒.๓๒	๓๙๐
คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์	๓๑.๔๗ a	๒.๓๒	๓๓๐
น้ำ (Control)	๔๗.๗๒ c	๒.๓๒	๓๗๐
ค่าเฉลี่ย	๔๐.๖๗		
CV.	๑๓.๐% ^{**}		

ตารางที่ ๒ อัตราและระยะในการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* N๕๑๐๒ ต่อโรคแคงเกอร์บนผลมะนาว

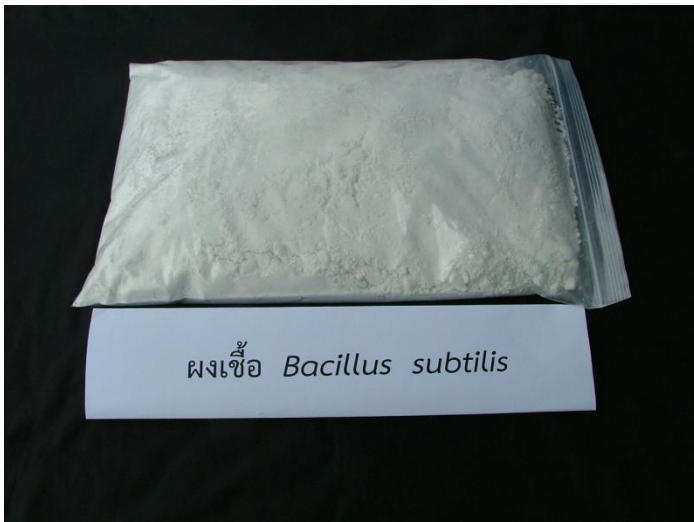
กรรมวิธี	ระดับคะแนนการเกิดโรค		ค่าเฉลี่ย	ค่าความแตกต่าง
	๗ วัน	๑๔ วัน		
ผงเชื้อ <i>B. subtilis</i> อัตรา ๑ กรัม/ลิตร	๒.๘ b	๒.๖ a	๒.๗ b ^{๑/}	๐.๒ ns
ผงเชื้อ <i>B. subtilis</i> อัตรา ๕ กรัม/ลิตร	๒.๔ ab	๒.๖ a	๒.๕ ab	-๐.๒ ns.
ผงเชื้อ <i>B. subtilis</i> อัตรา ๑๐ กรัม/ลิตร	๒.๔ ab	๒.๔ a	๒.๔ ab	๐
คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์	๒.๒ a	๒.๔ a	๒.๓ a	-๐.๒ ns
น้ำ (Control)	๓.๓ c	๓.๒ b	๓.๓ c	๐.๑ ns
ค่าเฉลี่ย	๒.๖	๒.๖	๒.๖	

CV. = ๒๕.๕%^{**}

^{๑/} อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีDMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๙%



ภาพที่ ๑ ระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์บนผลมะนาว



ภาพที่ ๒ ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N ๕๑๐๒



ภาพที่ ๓ การฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ



ภาพที่ ๔ การใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N๕๑๐๒ ต้นมีความสมบูรณ์ใบมีสีเขียวเข้มและมีขนาดใหญ่