

การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์
ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*

Controlling Phytophthora Root Rot and Stem Rot of Durian by Biological
Product from *Bacillus subtilis*

นลินี ศิวากรณ^{1/} พจนา ตระกูลสุรรัตน์^{1/}
ศิริพร วรกุลดำรงชัย^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6

บทคัดย่อ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาที่สำคัญมากต่อการปลูกทุเรียนซึ่งมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Butler(1919) การค้นพบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการโดยไม่ทำให้ทุเรียนเกิดโรค ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strainWD20 ผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* WD20 สามารถรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้โดยต้นที่ได้รับการรักษาด้วยการลอกเปลือกบริเวณที่เป็นโรคและทาด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* WD20 จำนวน 4 ครั้งรวมทั้งใช้เข็มฉีดเชื้อ *B. subtilis* WD20 จำนวน 1 ครั้งต้นทุเรียนที่ได้รับการรักษาอาการโคนเน่าจะเริ่มหายเป็นปกติโดยเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคฟื้นตัวเป็นเนื้อไม้ปกติ ผลที่เป็นโรคแห้ง บริเวณที่เป็นแผลสีน้ำตาลเป็นจุดเล็กกระจายตัวไม่รวมตัวกันเนื้อเยื่อบางส่วนเริ่มกลับเป็นเนื้อเยื่อปกติมีสีขาว น้ำยางสีน้ำตาลหยุดไหล ต้นทุเรียนมีลักษณะสมบูรณ์ฟื้นตัวใบตั้งมีสีเขียวสดใส ส่วนต้นทุเรียนที่ทาและราดดินด้วยสารเคมีเมทาแลกซิลเนื้อเยื่อบริเวณแผลที่เป็นโรคมีสีน้ำตาล ฉ่ำน้ำเป็นบริเวณกว้างตามรอยแผลที่เป็นโรค เนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ยและมีน้ำยางสีน้ำตาลไหลตามแผลที่ทาด้วยสารเคมีจนเป็นแผลฉ่ำน้ำบริเวณกว้าง ต้นและใบไม้ฟื้นตัว

รหัสการทดลอง 01-21-54-02-03-00-03-54

คำนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae เชื่อว่าทุเรียนมีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทุเรียนในประเทศไทยเข้าใจว่าคงนำพันธุ์มาจากมาเลเซียเข้ามาปลูกในสมัยกรุงศรีอยุธยาและในระยะแรกคือทุเรียนพันธุ์พื้นเมือง (มนัส.2545) ในปัจจุบันทุเรียนจัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จนได้รับการยกย่องให้เป็น ”ราชาแห่งผลไม้” (นายดำ,2535) พันธุ์ที่ชาวสวนนิยมปลูกมากที่สุดคือหมอนทอง 53.98 % ชะนี 37.30 % ก้านยาว 5.75% กระดุม 2.97 % (นิรนาม, 2535)

โรครากเน่าและโคนเน่าเป็นโรคที่มีมานานมากกว่า 30 ปีและสร้างความเสียหายตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันมากกว่า 40,000 ไร่ (นิรนาม,2537) การป้องกันกำจัดมีหลายวิธี ถึงแม้จะใช้ต้นตอ ต้านทานโรคร่วมกับการใช้สารเคมี การระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนก็ยังคงเกิดขึ้นอยู่เป็นประจำ ซึ่งการใช้สารเคมีสามารถควบคุมโรคได้ในระยะสั้นๆ เท่านั้น การควบคุมโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งจะนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งในปัจจุบันมีการจำหน่ายเชื้อราไตรโคเดอร์มาช่วยลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า แต่การระบาดของโรคก็ยังคงมีอยู่และยังเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่น ๆ ที่เฉพาะเจาะจงซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ให้เกษตรกรมีทางเลือกและวิธีการที่ดีในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกทุเรียนอำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, PSA, PDB, PSB, น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ, แอลกอฮอล์
3. ผงแป้งทัลคัม,แมกนีเซียมซัลเฟต, เมททิลเซลลูโลส
4. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* strain WD20
5. กล้องจุลทรรศน์, เครื่องเขย่า, เครื่องกรองแบคทีเรีย, เครื่องดูดจ่ายสารละลาย, เครื่องชั่งและหม้อนึ่งความดัน
6. กล้องจุลทรรศน์ และวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

การศึกษาประสิทธิภาพของผงเชื้อ *Bacillus subtilis* WD20 ต่อโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในแปลงปลูก อำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี

1 การผลิตผงเชื้อ *B. subtilis* WD20

1.1 เตรียมอาหารเหลว PDB จำนวน 1 ลิตร แล้วแบ่งใส่ขวดทดลองรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 250 มิลลิลิตรจำนวน 4 ขวด ปิดฝาขวดด้วยสำลี จากนั้นนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน

1.2. นำเข็มฉีดยามีหัวปลายลดม้วนเป็นลูปวงกลมมาลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อแล้วนำไปแตะลากเอาเชื้อ *B. subtilis* WD20 ที่เลี้ยงอยู่ในหลอดทดลองบนอาหาร PSA จากนั้นนำไปใส่ลงในขวดอาหารเหลว PDB ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 โดยใส่ขวดละ 1-2 ลูป

1.3. นำขวดอาหาร PDB ที่ใส่เชื้อ *B. subtilis* WD20 มาเลี้ยงภายใต้เครื่องเขย่าที่ความเร็วอัตรา 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 2-7 วัน

1.4. หลังจากนั้นนำสารแมกนีเซียมซัลเฟตจำนวน 3 กรัม ใส่ลงไปในแต่ละขวดทดลองที่เลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* WD20 ตามระยะเวลาที่กำหนดในข้อ 1.3 แล้วเขย่าต่อไปเพื่อให้สารแมกนีเซียมซัลเฟตละลายในอาหาร

1.5. ต่อมานำสารเมทิลเซลลูโลสจำนวน 25 กรัมผสมกับน้ำร้อน 1 ลิตร โดยเทสารเมทิลเซลลูโลสทีละน้อยลงไปใต้น้ำร้อนพร้อมกับใช้ช้อนตักสารเคมีคนไปเรื่อย ๆ เพื่อให้สารเมทิลเซลลูโลสละลายใต้น้ำร้อนจนมีสีขาวใส

1.6. นำสารละลายเมทิลเซลลูโลสที่เย็นแล้วจำนวน 250 มิลลิลิตรไปผสมกับเชื้อ *B. subtilis* WD20 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวในขวดทดลองแต่ละขวดในข้อ 1.4 โดยผสมอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วใช้ช้อนคนให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1.7. นำผงทัลคัมที่อบฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 1.2 กิโลกรัม ใส่ลงในภาชนะหม้อหรือกะละมัง แล้วนำเชื้อ *B. subtilis* WD20 ในข้อ 1.6 ค่อยๆ เทลงไปผสมกับผงทัลคัมที่เตรียมไว้ แล้วใช้ทัพพีคนให้เข้ากันกับเชื้อ *B. subtilis* WD20 จำนวน 1 ลิตร

1.8. นำส่วนผสมในข้อ 1.7 ตักใส่ในตะกร้าพลาสติกที่สะอาดที่มีกระดาษฟอยด์รองกันตะกร้า แล้วเกลี่ยให้เป็นแผ่นบาง ๆ ต่อมานำไปผึ่งให้แห้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

1.9. หลังจากแห้งแล้วหักให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปบดให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่นแห้ง แล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติกที่มีซิปปิดเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18^oซ.

1.10. ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* WD20 ที่ได้เป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้สำหรับเกษตรกรในการป้องกันกำจัดโรคพืช

2 ศึกษาประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B. subtilis* WD20 ต่อโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนในแปลงปลูกทุเรียนอำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี วางแผนการทดลองจำนวน 2 กรรมวิธี ๆ ละ 7 ซ้ำๆ ละ 1 ต้นดังนี้

1. ลอกเปลือกโคนต้นส้มทุเรียนบริเวณที่เป็นโรคแล้วทาด้วยผงเชื้ออัตรา 200 กรัม ต่อน้ำ 200 มล. ซึ่งผสมสารจับใบอัตรา 5 ซีซี/น้ำ 20 ลิตรและราดดินบริเวณโคนต้นด้วยผงเชื้ออัตรา 50 กรัม/น้ำ 5 ลิตร

2. ลอกเปลือกโคนต้นส้มโอบริเวณที่เป็นโรคแล้วทาด้วยผงเชื้ออัตรา 200 กรัม ต่อน้ำ 200 มล. ซึ่งผสมสารจับใบอัตรา 5 ซีซี/น้ำ 20 ลิตรและราดดินบริเวณโคนต้นด้วยน้ำหมักสูตรที่ 1 (กากน้ำตาล 1 กก.+น้ำ 25 ลิตร+ผงเชื้อ 180 กรัม)

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2554 – กันยายน 2555

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค สอพ. กรมวิชาการเกษตร
แปลงทุเรียนของเกษตรกร อ.แก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของผงเชื้อ *Bacillus subtilis* WD20 ต่อโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในแปลงปลูก อำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี พบว่า กรรมวิธีทาผลและราดดินด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจากเชื้อ *B. subtilis* WD20 และฉีดด้วยสารละลายจากเชื้อ *B. subtilis* WD20 ทำให้ต้นทุเรียนมีลักษณะสมบูรณ์พื้นตัวใบตั้งมีสีเขียวสดใส เนื้อเยื่อบริเวณแผลที่เป็นโรคพื้นตัวเป็นเนื้อไม้ปกติ แผลที่เป็นโรคแห้ง บริเวณที่เป็นแผลสีน้ำตาลเป็นจุดเล็กกระจายตัวไม่รวมตัวกันเนื้อเยื่อบางส่วนเริ่มกลับเป็นเนื้อเยื่อปกติมีสีขาว น้ำยางสีน้ำตาลหยุดไหล ส่วนต้นทุเรียนที่ทาและราดดินด้วยสารเคมีทาแลกลดเนื้อเยื่อบริเวณแผลที่เป็นโรคมีสีน้ำตาลฉ่ำน้ำเป็นบริเวณกว้างตามรอยแผลที่เป็นโรค เนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ยและมีน้ำยางสีน้ำตาลไหลตามแผลที่ทำด้วยสารเคมีจนเป็นแผลฉ่ำน้ำบริเวณกว้างต้นและใบไม้พื้นตัว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* WD20 สามารถรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ โดยต้นที่ได้รับการรักษาด้วยการลอกเปลือกบริเวณที่เป็นโรคและทาด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* WD20 จำนวน 4 ครั้งรวมทั้งใช้เข็มฉีดเชื้อ *B. subtilis* WD20 จำนวน 1 ครั้งต้นทุเรียนที่ได้รับการรักษาอาการโคนเน่าจะเริ่มหายเป็นปกติโดยเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคพื้นตัวเป็นเนื้อไม้ปกติ แผลที่เป็นโรคแห้ง บริเวณที่เป็นแผลสีน้ำตาลเป็นจุดเล็กกระจายตัวไม่รวมตัวกันเนื้อเยื่อบางส่วนเริ่มกลับเป็นเนื้อเยื่อปกติมีสีขาว น้ำยางสีน้ำตาลหยุดไหล ต้นทุเรียนมีลักษณะสมบูรณ์พื้นตัวใบตั้งมีสีเขียวสดใส

เอกสารอ้างอิง

- มนัส ดาเกลี้ยง. 2545. พันธุ์ทุเรียนเมืองลับแล. คณะเกษตรศาสตร์และสิ่งแวดล้อม สถาบันราชภัฏอุตรดิตถ์. 17 หน้า
- นายดำ ฉิงสุวรรณโรจน์. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูและการบำรุงรักษา. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 128 หน้า.
- นิรนาม. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูและการบำรุงรักษา. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 128 หน้า.
- นิรนาม. 2537. ทุเรียน. หน้า 38-39 ใน: กลุ่มไม้ผล. รายงานประจำปี 2537 สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- Tek Chand Bhalla, Nitya Nand Sharma and Monica Sharma, 2009. FOOD AND INDUSTRIAL MICROBIOLOGY: Production of Metabolites, Industrial enzymes, Amino acid, Organic acids, Antibiotics, Vitamins and Single Cell Proteins. Available Source: <http://www.pdfdocspace.com/docs/1511/food-and-industrial-microbiology-production-of-metabolites-industrial-enzymes-amino-acid-organic-acids-antibiotics-.html>. 6 Feb 2012.