ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาว

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

นลินี ศิวากรณ์[1/] พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] วสันต์ ผ่องสมบูรณ์[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูก ตำบลมหาสวัสดิ์ อำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย 31.47% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 330 กรัม ผลมะนาวร่วงก่อนการเก็บเกี่ยวขนาดผลจึงมีขนาดเล็กทำให้น้ำหนักผลที่ได้ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปผงเชื้อ แสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 39.94% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 390 กรัม และทรงต้นที่สมบูรณ์ใบมีขนาดใหญ่สีเขียวเข้ม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 43.53% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.33 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 340 กรัม และกรรมวิธีเปรียบเทียบน้ำ (Control) แสดงความรุนแรงของการเกิดโรค 54.02 % ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 370 กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปผงทำให้ผลผลิตมีขนาดใหญ่ผลไม่ร่วงก่อนถึงระยะเก็บเกี่ยวทรงต้นสมบูรณ์แข็งแรงใบมีสีเขียวเข้ม จึงนับได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปผงเชื้อมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้

การศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N5102 เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*)ในแปลงปลูกอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ดีที่สุดโดยแสดงระดับคะแนนการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย 2.3 รองลงมาได้แก่การใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N5102 อัตรา 10 กรัม/น้ำ 1 ลิตรและ 5 กรัม/น้ำ 1 ลิตรโดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.4 และ 2.5 และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำ)แสดงคะแนนการเกิดโรคสูงสุดเฉลี่ย 3.3 ส่วนระยะเวลาในการฉีดพ่นทุก 7 วันไม่มีความแตกต่างกับการฉีดพ่นทุก 14 วัน

รหัสการทดลอง 01-35-54-01-03-00-01-54

คำนำ

โรคแคงเกอร์ของมะนาวมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถเข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือพื้นดินตั้งแต่ ใบ กิ่งก้าน ผล และสามารถอาศัยอยู่บนต้นมะนาวได้ทุกฤดู โดยมากมักพบระบาดรุนแรงในฤดูฝน ลักษณะอาการของโรคที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลจุดสะเก็ดสีน้ำตาล ทำให้ใบร่วง การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย ทำให้ผลมีตำหนิมากไม่เป็นที่ต้องการของตลาด คุณภาพของผลผลิตตกเกรด การป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ในปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพโดยตรงต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารประกอบคอปเปอร์ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราฉีดพ่นคลุมต่อเนื่องเป็นประจำ ทำให้ระบบนิเวศวิทยาถูกทำลายและมีสารประกอบคอปเปอร์ตกค้างในผลิตผล บางครั้งเกษตรกรก็ใช้ยาปฏิชีวนะกับโรคแคงเกอร์ทำให้เกิดการสะสมของยาในผลผลิตซึ่งจะทำให้มนุษย์ได้รับสารปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็นอันอาจทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคในระยะที่เกิดการเจ็บป่วยได้ ซึ่งก็เป็นอันตรายที่จะแนะนำให้เกษตรกรนำยาปฏิชีวนะมาใช้ในทางการเกษตร ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวจึงได้หันมาศึกษาด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชซึ่งได้มีการศึกษากันมามีหลายชนิดได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส เชื้อรา และสัตว์ชนิดเล็กๆที่กินจุลชีพเป็นอาหาร เช่น โปรโตซัว ไส้เดือนฝอย และไร แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุดในการควบคุมโรคพืชเนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วและย่อยสลายอาหารได้กว้างในสภาพแตกต่างกันทั้งยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Kenneth and Cock,1982) นลินีและคณะ(2528) พบว่าเชื้อ actinomycetes ที่แยกได้จากดินในท้องที่ต่างๆสามารถสร้างปฏิชีวนสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโรคพืชได้หลายชนิด นลินีและคณะ (2534) พบว่า *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งของข้าวจาก94% เป็น19% และจากการศึกษาการควบคุมโรคแคงเกอร์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในแปลงทดลองที่จังหวัดอยุธยาพบว่า เชื้อ *B. subtilis* N5102 ที่แยกได้และนำมาจำแนกชนิดด้วยวิธี 16S rDNA นี้มีลำดับเบสที่ตรงกับ *B. subtilis* strain WD20 และผงเชื้อจุลินทรีย์นี้สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 25.61% ซึ่งไม่แตกต่างกับการฉีดพ่นในรูปเชื้อสดที่เลี้ยงจากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรงให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 26.62% แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 51.74% และกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ฉีดพ่นด้วยน้ำให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 54.02%(นลินีและคณะ ,2553) ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวเพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพร้อมทั้งนำสูตรน้ำมาทดสอบประสิทธิภาพและหาอัตราที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการแนะนำแก่เกษตรกรในการจัดการควบคุมโรคแคงเกอร์มะนาว โดยการดัดแปลงหรือพัฒนาให้มีความเหมาะสมต่อสภาพการผลิตมะนาว อันจะเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถเลือกและเพิ่มมูลค่าของผลผลิตที่ปราศจากพิษตกค้าง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกมะนาวที่ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม และอ.บ้านแพ้ว จ.นครปฐม
2. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* N5102

3. สารจับใบ และสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77%WP.
4. กล้องจุลทรรศน์, เครื่องแก้ว, ตาชั่ง, เครื่องเขย่า
5. ผงทัลคัม, เมทิลเซลลูโล, แมกนีเซียมซัลเฟต
6. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA, PDA, PSB และ PDB

วิธีการ

1. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N 5102 ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม

1.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปน้ำหมัก *B. subtilis* N 5102 โดยเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* N 5102 ในอาหารเหลวPSB จำนวน 1 ลิตร เป็นเวลา 10 วันในเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที จากนั้นใส่ในถังหมักขนาด 60 ลิตรโดยผสมด้วยน้ำมันฝรั่ง 4 ลิตรและกากน้ำตาล 400 มล.และน้ำ 15 ลิตร หมักไว้เป็นเวลา 1 เดือน

1.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N5102 ขั้นตอนกรรมวิธีการผลิตชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N5102 เพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชโดยนำเชื้อ *B. subtilis* N5102 ใส่ในขวดที่มีอาหาร PDBจำนวน 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าความเร็วอัตรา 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 2-7 วัน หลังจากนั้นใส่แมกนีเซียมซัลเฟต จำนวน 3 กรัมแล้วเขย่าต่อไป นำสารเมทธิลเซลูโลสจำนวน 6.25 กรัมผสมน้ำร้อน 250 มิลลิลิตรแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และทิ้งให้เย็นจึงนำไปผสมกับขวดที่เลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* N5102 อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรแล้วใช้ช้อนคนเพื่อให้สารละลายของเชื้อและเมทิลเซลลูโลสเข้ากัน ทิ้งไว้ 20 นาที จึงนำไปผสมกับผงทัลคัมที่อบฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 1-1.1 กิโลกรัม เมื่อส่วนผสมทั้งสองรวมเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว จึงนำไปเทใส่ในถาดหรือตระกร้าที่สะอาดที่มีแผ่นฟรอยด์รองปิดก้นและด้านข้าง โดยเทบางๆให้ทั่ว แล้วนำไปผึ่งให้แห้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-5 วันหรือจนเป็นก้อนแข็งและแห้ง จึงแกะออกจากแผ่นฟรอยด์หักเป็นชิ้น ๆ แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นเก็บใส่ถุงพลาสติกที่มีซิปหรือกระป๋องพลาสติกที่มีฝาปิดแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้แย็นอุณหภูมิ 18^{0}ซ.

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N5102 บนต้นมะนาว

1.3.1 การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบRCBมี 4 กรรมวิธี ๆละ 5 ซ้ำ ๆละ 1 ต้น ดังนี้

1. ฉีดพ่นด้วยน้ำหมักจากเชื้อ *B. subtilis* N5102 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาผสมน้ำอัตรา 80 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร

2. ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis*N 5102ที่เตรียมไว้ในข้อ2 อัตรา 250 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

3. ฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

4. ฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

1.3.2 การปฏิบัติการทดลอง นำสารละลายตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ3.1 ผสมสารจับใบอัตรา 5 มล./น้ำ 20 ลิตร แล้วนำไปฉีดพ่นบนต้นมะนาวแต่ละต้นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ในแต่ละต้นและกำหนดผลมะนาวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม.อายุผลมะนาว 2 สัปดาห์ถึง 1 เดือน และไม่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อเป็นตัวแทนในการตรวจการเกิดโรคในแต่ละต้นจำนวน 30 ผล/ต้น โดยฉีดพ่นทุกสัปดาห์ด้วยถังฉีดยาแบบติดเครื่องยนต์สะพายหลังจนถึงระยะแก่เต็มที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เป็นเวลา 3 เดือน(ผลมะนาวมีระยะตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บกี่ยวเป็นเวลา 5 เดือน)

1.3.3 การบันทึกข้อมูล ตรวจและประเมินให้คะแนนความรุนแรงระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์บนผลมะนาวในแต่ละผลตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (1971) ดังนี้ (ภาพที่1)

1 = ไม่พบเกิดโรคแคงเกอร์
2 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 1-5 %ของพื้นที่รอบผล
3 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 5- 10 %ของพื้นที่รอบผล
4 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 11-25 %ของพื้นที่รอบผล
5 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 26-50 %ของพื้นที่รอบผล
6 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 51-75 %ของพื้นที่รอบผล
7 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 76-100 %ของพื้นที่รอบผล

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคตามวิธีของ Horsfall and Heuberger (1942) ดังนี้

$$\text{ความรุนแรงของการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับ x จำนวนผลของแต่ละระดับ)}}{\text{จำนวนผลทั้งหมด x ระดับสูงสุด}} \times 100$$

และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ

2. ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N 5102 ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

2.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N 5102 โดยใช้เข็มเขี่ยหัวกลมเขี่ยเชื้อ *B. subtilis* N5102 ที่เลี้ยงในหลอดอาหาร PSA จำนวน 1 loop มาใส่ในอาหารเหลว PSBที่บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 500 มล. แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 145-150 รอบ/นาที เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นจึงเติมแมกนีเซียมซัลเฟตและเมททิลเซลลูโลสลงไปในขวดเลี้ยงเชื้อ กวนให้เข้ากัน นำส่วนผสมทั้งหมดค่อย ๆเทใส่ลงในผงทัลคัมที่อบฆ่าเชื้อแล้วผสมให้เข้ากันและนำมาเทใส่ถาดที่วางรองด้วยอลูมินั่มฟอยล์เกลี่ยให้เรียบและผึ่งไว้จนแห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 3-4 วัน แล้วนำมาบดให้เป็นผงละเอียด(ภาพที่2)

2.2 การทดสอบอัตราและระยะเวลาในการใช้ผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* N 5102 ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์บนต้นมะนาว

2.2.1 การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบFactorial in RCB มี 5 กรรมวิธี ๆละ 5 ซ้ำ ๆละ 3 ผล ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ดังนี้

1. ฉีดพ่นบนผลมะนาวด้วยกรรมวิธีต่างๆ คือ

1.1 ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N5102ที่เตรียมไว้ในข้อ1 อัตรา 1 กรัม/น้ำ1ลิตร

1.2 ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N5102ที่เตรียมไว้ในข้อ1 อัตรา 5 กรัม/น้ำ1ลิตร

1.3 ฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N5102ที่เตรียมไว้ในข้อ1 อัตรา 10 กรัม/น้ำ1ลิตร

1.4 ฉีดพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ อัตรา 10 กรัม/น้ำ 1 ลิตร

1.5 ฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

2. ระยะเวลาการฉีดพ่น คือ

2.1 ฉีดพ่นทุก 7 วัน

2.2 ฉีดพ่นทุก 14 วัน

2.2.2 การปฏิบัติการทดลอง นำสารละลายตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ 2.2.1 ผสมสารจับใบอัตรา 2 หยด/น้ำ 20 มล. แล้วนำไปฉีดพ่นบนผลมะนาวแต่ละต้นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ในแต่ละผลและกำหนดผลมะนาวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม.อายุผลมะนาว 2 สัปดาห์และไม่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อเป็นตัวแทนในการตรวจการเกิดโรคในแต่ละผลจำนวน 3 ผล/ต้น และฉีดพ่นตามกรรมวิธีที่วางไว้จนถึงระยะแก่เต็มที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เป็นเวลา 3 เดือน (ผลมะนาวมีระยะตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บกี่ยวเป็นเวลา 5 เดือน) โดยมีกรรมวิธีการฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ (ภาพที่3)

2.2.3 การบันทึกข้อมูล ตรวจและประเมินให้คะแนนความรุนแรงระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์บนผลมะนาวในแต่ละผลตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (1971) เช่นเดียวกับข้อ 1.3.3

เวลาและสถานที่

- มกราคม 2554 – กันยายน 2556
- ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงมะนาวของเกษตรกร ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม และ อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์น้ำหมักและผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 31.47% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ 10 ผล เท่ากับ 330 กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปผงเชื้อ แสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 39.94% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ

10 ผลเท่ากับ 390 กรัม เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปน้ำหมักแสดงความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 43.53% ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.33 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 340 กรัม และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) แสดงความรุนแรงของการเกิดโรค 54.02 % ให้น้ำมะนาวที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.32 และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ 10 ผลเท่ากับ 370 กรัม (ตารางที่1) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารเคมีคอปเปอร์ไฮครอกไซด์แสดงคะแนนการเกิดโรคบนผลต่ำที่สุดแต่ให้น้ำหนักผลที่ต่ำที่สุดโดยผลมะนาวมีขนาดเล็กเนื่องจากการใช้สารเคมีทำให้ต้นมะนาวในผลที่เกิดโรคร่วงก่อนกำหนดและช่อผลในแต่ละช่อจะมีผลทยอยเกิดขึ้นใหม่ทดแทนผลที่ร่วงไปทำให้ผลใหม่มีขนาดเล็กจึงทำให้น้ำหนักของผลน้อยและ การประเมินระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นบนผลก็จะต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คะแนนการเกิดโรคที่เกิดขึ้นจึงประเมินจากช่อเดิมแต่มิได้เกิดจากอายุของผลที่มีขนาดอายุที่เท่ากัน ดังนั้นการใช้สารเคมีคอปเปอร์ไฮครอกไซด์จึงไม่ใช่กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆที่ทดสอบ การใช้น้ำหมักที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาลซึ่งเป็นอาหารและเป็นประโยชน์ทั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 และเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคจึงทำให้ความรุนแรงของการเกิดโรคแคงเกอร์สูงแต่คะแนนการเกิดโรคที่เกิดขึ้นก็ต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ส่วนการใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อ *B. subtilis* N5102 ผลมะนาวจะติดอยู่บนต้นนาน ต้นมีความสมบูรณ์ใบมีสีเขียวเข้มและมีขนาดใหญ่ ผลผลิตมีขนาดใหญ่กว่าปกติทำให้น้ำหนักผลมะนาวสูงกว่ากรรมวิธีอื่น(ภาพที่4)

เนื่องจากแปลงมะนาวของเกษตรกรที่ ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม ได้ถูกอุทกภัยน้ำท่วมสูงจนทำให้ต้นมะนาวตายหมดทั้งแปลงปลูกจึงต้องย้ายสถานที่ทำการทดลองไปยังแปลงเกษตรกร อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาครซึ่งไม่ประสบปัญหาน้ำท่วม ต้นมะนาวที่ต.มหาสวัสดิ์ อ.ศาลายา จ.นครปฐม ต้นมะนาวมีลักษณะพันธุ์ผลเป็นพวงในแต่ละช่อเป็นพันธุ์แป้นพวงและเป็นพันธุ์เดียวกันหมดทั้งแปลง ดังนั้นแต่ละกรรมวิธีจึงใช้มะนาวต้นใดก็ได้ในแปลงปลูก ส่วนแปลงใน อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร ลักษณะของต้นมะนาวแต่ละต้นมีความแตกต่างระหว่างพันธุ์และโดยมากจะเป็นพันธุ์ที่มีผลเดี่ยวๆ ดังนั้นการวางแผนการทดลองในการศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร จึงต้องเปลี่ยนไปจากเดิมเพื่อไม่ให้ความแตกต่างระหว่างต้นและพันธุ์มาเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการคาดเคลื่อนของระดับคะแนนการเกิดโรค จึงต้องวางแผนให้ทุกกรรมวิธีต้องรวมอยู่ในต้นเดียวกัน กรรมวิธีละ 1 ผลต่อต้นและมีจำนวนต้น(ซ้ำ)มากและให้คะแนนเป็นระดับการเกิดโรคโดยไม่ได้นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยต่อซ้ำ

2. การศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อ *B. subtilis* N5102 ในรูปผลิตภัณฑ์ผงเชื้อต่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวในแปลงปลูกของเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร จากการทดลองพบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย 2.2 เมื่อพ่นทุก 7 วันและคะแนนเฉลี่ย 2.4 เมื่อพ่นทุก 14 วัน การฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 อัตรา 5 กรัม/ลิตรและ 10 กรัม/ลิตร แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 2.4 เมื่อพ่นทุก7 วันและคะแนนเฉลี่ย 2.6 เมื่อพ่นทุก 14 วัน ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ ส่วนการฉีดพ่นด้วยผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 อัตรา 1 กรัม/ลิตร แสดงระดับคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 2.8 เมื่อพ่นทุก 7 วัน และคะแนนเฉลี่ย 2.6 เมื่อพ่นทุก 14 วัน กรรมวิธีการฉีดพ่นด้วยน้ำซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบมะนาวแสดงการเกิดโรคแคงเกอร์สูงที่สุดโดยแสดงระดับคะแนน

ความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 3.3 เมื่อพ่นทุก 7 วัน และคะแนนเฉลี่ย 3.2 เมื่อพ่นทุก 14 วัน (ตารางที่2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* N5102 ในรูปผงให้ประสิทธิภาพในด้านการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวและขนาดน้ำหนักของผลผลิตสูงทรงต้นที่สมบูรณ์ ใบมีขนาดใหญ่สีเขียวเข้ม โดยมีคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคแคงเกอร์ 39.94% น้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 390 กรัม ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งฉีดพ่นด้วยน้ำแสดงความรุนแรงของการเกิดโรค 54.02 %และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 370 กรัม ส่วนสารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์แสดงคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ย 31.47%และน้ำหนักผลผลิตของผลมะนาวต่อ10 ผลเท่ากับ 330 กรัม ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อแม้คะแนนการเกิดโรคแคงเกอร์ไม่แสดงค่าต่ำที่สุดแต่ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต้นสมบูรณ์แข็งแรง ส่วนการศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* N5102 เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) พบว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ดีที่สุดโดยแสดงระดับคะแนนการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ย 2.3 รองลงมาได้แก่ การใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อ *B. subtilis* อัตรา 5 กรัม/น้ำ 1 ลิตรและ10 กรัม/น้ำ 1 ลิตรโดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรคเฉลี่ย 2.5 และ 2.4 และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำ)แสดงคะแนนการเกิดโรคสูงสุดเฉลี่ย 3.3 ส่วนระยะเวลาในการฉีดพ่นทุก 14 วันไม่มีความแตกต่างกับเมื่อฉีดพ่นทุก 7 วัน ซึ่งจากการทดลองยังไม่มีสารชนิดใดที่สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ให้หายไปจากสวนได้ยังคงต้องใช้วิธีการป้องกันกำจัดโรคอื่นๆร่วมกันเช่น การใช้วิธีการเขตกรรม โดยการตัดแต่งกิ่งที่เป็นโรคและนำออกจากแปลงปลูกไปเผาทำลายเพื่อลดปริมาณแหล่งสะสมของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคแคงเกอร์

เอกสารอ้างอิง

นลินี ศิวากรณ์ สุเนตรา ภาวิจิตร วินิดา ฐิตะฐาน และสำเนา ศรุตานนท์ 2528. การศึกษาปฏิชีวนภาพของเชื้อActinomycetes ในดินต่อเชื้อบักเตรีโรคพืช.หน้า301-311. ใน: รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2528. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.

นลินี จาริกภากร ภาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด พิรุณ จันทนกุล เอนกชัย.2534. การป้องกันกำจัดโรค ข้าวโดยเชื้อบักเตรี *Bacillus subtillis*. หน้า 257-272. ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการความก้าวหน้าเทคโนโลยีชีวภาพการกสิกรรมและสิ่งแวดล้อม ณ โรงแรมเชียงใหม่ออร์คิด จ. เชียงใหม่

นลินี ศิวากรณ์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์. 2553. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ.หน้า2614-2629.ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี2553. สำนักวิจัยพัฒนาการ อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Kenneth,F.B., and R.J.Cock. 1982. Biological control of plant pathogens. Publish by The American Phytopathological Society.St.Paul, Minnesota. 433p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* N5102 ต่อโรคแคงเกอร์บนผลมะนาว

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ย % การเกิดโรค	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำมะนาว	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักผล /10 ลูก(กรัม)
น้ำหมักจากเชื้อ *B. subtilis*	43.53bc	2.33	340
ผงเชื้อ *B. subtilis*	39.94 b	2.32	390
คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์	31.47 a	2.32	330
น้ำ (Control)	47.72 c	2.32	370
ค่าเฉลี่ย	40.67		
CV.	13.0%**		

ตารางที่ 2 อัตราและระยะในการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* N5102 ต่อโรคแคงเกอร์บนผลมะนาว

กรรมวิธี	ระดับคะแนนการเกิดโรค		ค่าเฉลี่ย	ค่าความแตกต่าง
	7 วัน	14 วัน		
ผงเชื้อ *B. subtilis*อัตรา 1 กรัม/ลิตร	2.8 b	2.6 a	2.7 b[1/]	0.2 ns
ผงเชื้อ *B. subtilis*อัตรา 5 กรัม/ลิตร	2.4 ab	2.6 a	2.5 ab	-0.2 ns.
ผงเชื้อ *B. subtilis*อัตรา 10 กรัม/ลิตร	2.4 ab	2.4 a	2.4 ab	0
คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์	2.2 a	2.4 a	2.3 a	-0.2 ns
น้ำ (Control)	3.3 c	3.2 b	3.3 c	0.1 ns
ค่าเฉลี่ย	2.6	2.6	2.6	

CV. = 25.5%**

[1/] อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีDMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%