

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การขยายผลการใช้จุลินทรีย์ *Bacillus subtilis*
สำหรับการควบคุมโรคไม้ผล”

I. ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคโคนและรากเน่า
และกลุ่มราโรคผลเน่าของทุเรียน

คณะผู้วิจัย

- | | |
|---------------------------------|---|
| 1. ผศ.ดร. วิจิตรา สีสละศุภกุล | ภาควิชาชีวเคมี |
| 2. รศ.ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร | ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ |
| 3. ผศ. เสมอใจ ชื่นจิตต์ | ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
ชุดโครงการไม้ผลและผลิตภัณฑ์จากผลไม้

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อการขยายผลการใช้จุลินทรีย์ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคที่สำคัญของทุเรียน คือโรคโคนและรากเน่าและโรคผลเน่า จำเป็นต้องทราบข้อมูลจากห้องปฏิบัติการแล้วจึงประยุกต์ สำหรับทดสอบในระดับแปลงทดลองเพื่อยืนยันผลที่ชัดเจน จึงเริ่มต้นจากเชื้อ *B.subtilis* ที่แยกจาก ดินให้บริสุทธิ์ จำนวน 23 สายพันธุ์แสดงปฏิกิริยาปฏิสัมพันธ์ชัดเจนบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่แยกได้จาก จ. ชุมพร (T1 และ T2) จาก จ. จันทบุรี และเชื้อ *Lasiodiplodia theobromae*, *Phomopsis* sp., และ *Colletotrichum gloeosporioides* อย่างละ 2 สายพันธุ์ ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* ต่อการยับยั้งเชื้อราทั้งสองกลุ่มแตกต่างกัน โดย *P.palmivora* ด้านทาน ได้สูงกว่า *L.theobromae*, *Phomopsis* sp. และ *C.gloeosporioides* เมื่อพิจารณาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง สำหรับ *P.palmivora* ทั้ง 3 ไอโซเลท ต้องใช้น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในระดับความเข้มข้นที่เจือจางไป 4 เท่า ในขณะที่ *L.theobromae*, *Phomopsis* sp. และ *C.gloeosporioides* ใช้ระดับที่เจือจางไปถึง 32-64 เท่า ค่า EC_{50} ของสารสกัดขยายจากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* แต่ละสายพันธุ์ (ABS-D01, ABS-D02, ABS-D03, ABS-D11 และ ABS-D12) มีค่าแตกต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองกลุ่ม จำนวน 9 ไอโซเลทที่ทดสอบ ค่าเฉลี่ย EC_{50} ของ *B.subtilis* สายพันธุ์ ABS-D12 มีค่าต่ำที่สุดคือ 115.9 $\mu\text{g/ml}$ และ *B.subtilis* ทั้งห้าสายพันธุ์ดังกล่าวไม่แสดงปฏิกิริยาปฏิสัมพันธ์ระหว่างกันบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อจึงใช้ผสมรวมสำหรับทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งโรคที่เกิดจากเชื้อราโรคผลเน่า โดยใช้ *L.theobromae* 2-03 ซึ่งก่อโรครุนแรงสูงเมื่อปลูกเชื้อบนผลทุเรียนและที่เกิดตามธรรมชาติ ผลวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธีพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคเมื่อทำการปลูกเชื้อก่อนแล้วจึงจุ่มสารไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ในขณะที่หากจุ่มสารแต่ละชนิดก่อน แล้วจึงปลูกเชื้อพบว่าแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีที่สุดคือ imazalil 500 pm. รองลงมาคือสารผสมที่สกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อของ *B.subtilis* 5 สายพันธุ์ในอัตราส่วน เท่ากัน และเชื้อผสม *B.subtilis* 5 สายพันธุ์ (10^9 cfu/ml) ซึ่งสอดคล้องกับผลระดับความรุนแรงของการเกิดโรค การเกิดโรคผลเน่าที่เกิดตามธรรมชาติพบว่ายับยั้งได้ระดับหนึ่ง โดยน้ำเลี้ยงเชื้อมีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถลดการเกิดโรคได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม รองลงมาคือ สาร imazalil และสารสกัดซึ่งให้ผลไม่แตกต่างในทางสถิติกับชุดควบคุมซึ่งจุ่มแช่ในน้ำ โดยสรุป เชื้อ *B.subtilis* ทั้ง 5 สายพันธุ์และสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อมีศักยภาพที่ใช้ควบคุมโรคที่สำคัญของ ทุเรียนคือโรคโคนและรากเน่าและโรคผลเน่าได้

Abstract

A study of the application of *B.subtilis* in the control of root rot and fruit rot diseases in Durian, using information obtained from laboratory tests and from experimental testing in the field, is reported. First *B.subtilis* was obtained from the field and screened on agar plates. Twenty-three strains of the *B.subtilis* showed strong antagonistic activity against two groups of fungi; the root rot disease caused by *Phytophthora palmivora* isolated from the field in Chumporn (T1 and T2), in Chantabury province, and the fruit rot diseases caused by *Lasiodiplodia theobromae*, *Phomopsis* sp. and *Colletotrichum gloeosporioides*. Significant differences in the efficiency of the culture filtrates of those strains of *B.subtilis* tested among the two groups of fungi were observed. *P.palmivora* was more resistant to *B.subtilis* than *L.theobromae*, *Phomopsis* sp. and *C.gloeosporioides*. Four-x dilutions of the culture filtrates were able to inhibit all three isolates of *P.palmivora*, and thirty-two to sixty-four-x for *L.theobromae*, *Phomopsis* sp. and *C.gloeosporioides*. Variations in EC_{50} of the crude extracts of each strain of *B.subtilis* (ABS-D01, ABS-D02, ABS-D03, ABS-D11 and ABS-D12) against nine isolates of those fungi were obtained. *B.subtilis* ABS-D12 showed the lowest EC_{50} of 115.9 $\mu\text{g/ml}$. All five strains of *B.subtilis* were non-competitive to each other on the agar plates. Consequently, mixtures of the five cultures of *B.subtilis* were used cooperatively to control the diseases on the durian fruits. Inoculation of *L.theobromae* 2-03 appeared to be the most virulent among the fungal isolates causing a rot disease on the durian fruits. The efficiency of *B.subtilis* in controlling the disease of both artificially and naturally infected fruits was also tested. Dipping in various substances illustrated that the efficacy of the *B.subtilis* as a preventative was greater than as a curative. Significant differences of disease occurrence from the control set were demonstrated in the treatment with imazalil 500 ppm and mixtures of the extract from culture filtrates of *B.subtilis* and *B.subtilis* 5 strains (10^9 cfu/ml). The incidence of the natural fungal infected disease treated with the culture filtrates was lowest at 50 %. Dipping in water and others showed no inhibition. In conclusion, *B.subtilis* and their filtrates were potent in controlling of the root rot and fruit rot diseases of durian.