

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การควบคุมโรคร่วมของส้มโอพันธุ์ทองดีโดยชีววิธี

BIOLOGICAL CONTROL OF DISEASE COMPLEX
IN PUMMELO CV. TONGDEE



สันติภาพ นวลจรัส

SANTIPHAP NUANJAMRAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รพ.

๑๕๘๔ ก

๒๕๔๗

พ.ศ. ๒๕๔๗

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....56649

วัน,เดือน,ปี. 12 ก.ค. 2548

ISBN 974-15-1282-1

.b.
.i.

11418184

**BIOLOGICAL CONTROL OF DISEASE COMPLEX
IN PUMMELO CV. TONGDEE**

SANTIPHAP NUANJAMRAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN PLANT PEST MANAGEMENT TECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2004**

ISBN 974-15-1282-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GRADUATES STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา โดยผู้ยืมเอกสารนี้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การควบคุมโรคร่วมของส้มโอพันธุ์ทองดีโดยชีววิธี
ชื่อนักศึกษา	นายสันติภาพ นวลจำรัส
รหัสประจำตัว	42066317
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
พ.ศ	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอพันธุ์ทองดี พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และเชื้อรา *Pythium* sp. ซึ่งเป็นรายงานการพบครั้งแรกของประเทศไทย

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 9 isolates และ *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates กับใบส้มโอโดยวิธีการ detached leaf พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL09 มีความสามารถทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสรุนแรงมากที่สุด และ *Pythium* sp. isolate PP04 มีความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่ารุนแรงมากที่สุด และการทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. บนต้นส้มโอ พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 มีความสามารถทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นกล้าส้มโอรุนแรงมากที่สุด และ *Pythium* sp. isolate PP05 มีความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอรุนแรงมากที่สุด และเมื่อนำเชื้อ *Pythium* sp. isolate PP05 และเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกันบนต้นกล้าต้นส้มโอ พบว่าจากการปลูกเชื้อทั้ง 2 isolates ลงบนต้นกล้าส้มโอต้นเดียวกัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. หรือเชื้อ *C. gloeosporioides* เพียงอย่างเดียว

การใช้สารสกัดรวม (crude extract) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน (*Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC) ที่สกัดโดยใช้ ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 µg/มิลลิลิตร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต การสร้างสปอร์ และแสดงถึงก้านควบคุมโดยทำให้เส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค เกิดการสลายตัว (lysis) ที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ชนิดผงเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (copper oxychloride และ metalaxyl) และการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ใด) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพกระถาง พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ชนิดผง และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา(copper oxychloride และ metalaxyl) ทำให้การเกิดโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) โดยการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดสามารถทำให้เกิดโรคโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าลดลง 29 - 37 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ชนิดผง โดยใช้ในอัตรา 5 กรัม / ต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพโรยรอบโคนต้น ทุก 4 เดือน และใช้ฉีดพ่นที่ส่วนบนต้นในอัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร และทำการฉีดสารสกัดรวมของจุลินทรีย์ต่อต้านในอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุก 14 วัน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา (copper oxychloride และ metalaxyl) และการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) ในสภาพแปลงทดลองเป็นเวลา 24 เดือน พบว่า วิธีการที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดสามารถทำให้เกิดโรคโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าลดลง 34 - 41 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title	Biological Control of Disease Complex in Pummelo CV. Tongdee
Student	Mr. Santiphap Nuanjamrat
Student ID	42066317
Degree	Master of Science
Programme	Plant Pest Management Technology
Year	2004
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Kasem Soytong
Thesis CO – Advisor	Asst. Prof. Dr. Tanimnun Jaenaksorn

ABSTRACT

The causal agents of anthracnose and root rot of pummelo (*Citrus maxima* Merr.) identified as *Colletotrichum gloeosporioides* and *Pythium* sp. which reported for the first time in Thailand.

All isolates had been proved for pathogenicity tests on the leaves of pummelo. It showed that *C. gloeosporioides* CL09 and *Pythium* sp. PP04 were severe isolates and gave the highest disease incidence. All isolates had been proved for pathogenicity tests on the pummelo plants. *C. gloeosporioides* CL03 and *Pythium* sp. PP05 were severe isolates and gave the highest disease incidence. The dual pathogenicity test for disease complex between the *C. gloeosporioides* CL03 and *Pythium* sp. PP05 in seedling stage showed the highest incidence of disease as compared to the single pathogen infection.

Crude extracts from microbial antagonists (*Chaetomium cupreum* CC, *Ch:* *Globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 and *Penicillium chrysogenum* PC) at 0, 500, 1000, 1500, 2000 and 2500 µg/ml were tested for controlling *C. gloeosporioides* CL03 and *Pythium* sp. PP05. All tested crude extracts at 2500 µg/ml gave the highest inhibition of mycelial growth, spore production and causing lysis of the tested pathogens as control mechanism.

The application of bioproducts in powder formulation of *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, Mixture and chemical control (copper oxychloride and metalaxyl) and non – treated plants were conducted in the pot experiment to control anthracnose and root rot of pummelo. Result showed that application of bioproducts,

namely Chaetomium, Trichoderma, Penicillium, Mixture and chemical control were significantly different on the incidence of disease complex when compared to the non – treated plants. All tested of bioproducts could reduce the incidence of disease complex of Pummelo approximately 29 – 37 percent.

The application of bioproducts in powder formulation of Chaetomium, Trichoderma, Penicillium, Mixture at the rate of 5 g/plant together with biological fertilizer in each treatment which applied under the plant canopy every 4 months, and spraying at the rate of 20 g/ 20 litres of water and chemical control (copper oxychloride and metalaxyl) and non – treated plants were conducted in the field to control anthracnose and root rot of pummelo. Result showed that application of bioproducts, Chaetomium, Trichoderma, Penicillium and Mixture could reduce incidence of disease complex of Pummelo approximately 34 – 41 percent.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ต้องขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษรอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ รศ. แสณ ดิग्ฉนนานนท์ และ รศ.ดร. มยุรา สุนยวีระ ที่เป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมเดช กนกเมธากุล และ ผศ.ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้คำแนะนำในเรื่องเทคนิคการสกัดสารจากจุลินทรีย์

ขอขอบคุณรศ.ดร. เกษม สร้อยทอง ที่ช่วยสนับสนุนทุนวิจัยส่วนหนึ่งในการทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณบริษัทสตรองครอปจำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ชีวผลิตภัณฑ์ต่างๆในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าของสวนคุณประยูรศรี ชาญนรงค์ 20/1 ม.11 แขวงลำปลาทิว เขต ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และพี่สนอง เขตเจริญ ที่อนุเคราะห์สถานที่ทำการวิจัย และความช่วยเหลือด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ นักศึกษาทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และ น้อง ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี

สันติภาพ นวลจำรัส

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญภาพ	IX
สารบัญตาราง	XI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มโอ	3
2.2 พันธุ์ส้มโอในเมืองไทย	4
2.3 ปัญหาโรคและแมลงศัตรูสำคัญของส้มโอ	5
2.3.1 โรคของส้มโอ	5
2.3.2 แมลงศัตรูของส้มโอ	7
2.4 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง	36
บทที่ 4 ผลการทดลอง	46
4.1 อาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่า โคนเน่าของส้มโอ	46
4.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (Pathogenicity test)	55
4.2.1 ความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Pythium</i> sp. กับใบส้มโอโดยวิธีการ detached leaf	55
4.2.2 ความสามารถของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ในการทำ	

ให้เกิดโรคแอนแทรกในสบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี	56
4.2.3 ความสามารถของเชื้อ <i>Pythium</i> sp. ในการทำให้เกิดโรครากเน่า โคนเน่าบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี	56
4.2.4 ความสามารถในการเกิดโรคร่วม (Pathogenicity Disease Complex) ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Pythium</i> sp.	62
4.3 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการ เจริญของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Pythium</i> sp.	65
4.3.1 สารสกัดสารที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonistic fungi)	65
4.3.2 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านเพื่อ การควบคุมการเจริญเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Pythium</i> sp.	66
4.3.3 ศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และ <i>Pythium</i> sp. ทางด้านสัณฐานวิทยา (Morphology) โดยใช้ สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในสภาพ ห้องปฏิบัติการ	70
4.4 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรกในสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพกระถาง	81
4.5 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรกในสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพแปลงทดลอง	93
4.5.1 การศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรกในสและโรครากเน่า โคนเน่าของส้มโอก่อนและหลังการทดลอง	93
4.5.2 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรกในสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพแปลงทดลอง	95
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	105
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	112

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	115
ภาคผนวก.....	131
ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์	132
ประวัติผู้เขียน.....	144

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Chaetogobosin C และ ergosterol.....	10
4.1 ลักษณะเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolates CL01 CL02 และ CL03 อายุ 8 วัน	49
4.2 ลักษณะเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolates CL04 CL05 และ CL06 อายุ 8 วัน	50
4.3 ลักษณะเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolates CL07 CL08 และ CL09 อายุ 8 วัน	51
4.4 ลักษณะเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. Isolate PP01 PP02 และ PP03 อายุ 4 และ 6 วัน	53
4.5 ลักษณะเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. Isolate PP04 และ PP05 อายุ 6 และ 4 วัน.....	54
4.6 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolates ต่างๆ บนใบส้มโอ หลังการทดลอง 4 วัน.....	59
4.7 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า ของเชื้อ <i>Pythium</i> sp. isolates ต่างๆ บนใบส้มโอ หลังการทดลอง 4 วัน	59
4.8 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolates ต่างๆ บนต้นส้มโอ หลังการทดลอง 1 เดือน	60
4.9 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. บนต้นส้มโอ อายุ 1 ปี	61
4.10 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครวมบนต้นส้มโอ อายุ 1 ปี.....	64
4.11 การทดสอบสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL103 ที่อายุ 8 วัน	67
4.12 การทดสอบสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 ที่อายุ 4 วัน.....	69
4.13 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL03 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.14	สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ germ tubes เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL03 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง 75
4.15	สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ sporangia เชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง 79
4.16	สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ oospore เชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง 80
4.17	ลักษณะอาการของโรครวมของอาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> และอาการกิ่งแห้งตายจากโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. 91
4.18	การควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าในกระถางทดลอง 92
4.19	ลักษณะอาการโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโออายุ 3 ปี 93
4.20	ต้นส้มโอก่อนและหลังการทดลองในแปลงทดลอง เป็นเวลา 24 เดือน 104

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.4 การวิจัยจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย	18
2.5 การวิจัยจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชในต่างประเทศ	29
4.1 ลักษณะเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolates ต่างๆ	47
4.2 ลักษณะเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. Isolates ต่างๆ	52
4.3 การทดสอบความสามารถของการเกิดโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่า จาก isolates ต่างๆที่แยกได้ บนใบส้มและบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี	58
4.4 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของต้นส้มโอ อายุ 1 ปี	63
4.5 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและ การสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL03 ที่อายุ 8 วัน	67
4.6 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและ การสร้าง sporangia และ oospore ของเชื้อ <i>Pythium</i> sp. PP05 ที่อายุ 4 วัน	69
4.7 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ สปอร์เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> C103 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง... ..	73
4.8 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	78
4.9 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเนียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	85
4.10 การลดลงของโรคแอนแทรคโนสของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเนียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	86

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.11 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อ <i>Pythium</i> sp. PP05 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเลียม และมิกซ์เจอร์เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	87
4.12 การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อ <i>Pythium</i> sp. PP05 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง	88
4.13 ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนสของส้มโอที่ปลูกเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL103 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง.....	89
4.14 การลดลงของโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนสของส้มโอที่ปลูกเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05 และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL103 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลลิเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง.....	90
4.15 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอก่อนทำการทดลอง	94
4.16 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน.....	99
4.17 การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน.....	99
4.18 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน	100
4.19 การลดลงของโรคแอนแทรกโนสบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน	101

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.20	ระดับการเกิดโรคร่วม (disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนส ของต้นส้มโอ ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูกที่ระยะเวลา 24 เดือน.....
	102
4.21	การลดลงของโรคร่วม (disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนส ของต้นส้มโอ ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pythium</i> sp. และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูกที่ระยะเวลา 24 เดือน.....
	103

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ส้มโอเป็นไม้ผลยืนต้นขนาดกลาง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus maxima* (Burm.) Merr. อยู่ในวงศ์ Rutaceae ส้มโอเป็นผลไม้ที่ทุกคนรู้จักและนิยมบริโภคมานาน มีการปลูกแพร่หลายทั่วประเทศ เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด พื้นที่ปลูกแหล่งใหญ่ที่เป็นที่รู้จักกันดี ได้แก่ อำเภอสามพราน อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม อำเภอมนรมย์ อำเภอสรรคบุรี อำเภอสรรพยา อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท อำเภอโพธิ์ประทับช้าง อำเภอตะพานหิน อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร โดยเฉพาะส้มโอพันธุ์ทองดีมีการบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ (วิเศษ อัครวิทยากุล, 2538)

ปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอในทุกแหล่งปลูก มักประสบปัญหาการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (วิเชียร กำจายภัย และ สุพัตรา อินทวิมลศรี, 2526) และ *P. parasitica* (Ann et al., 2004) และโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Chandrasrikul., 1962; วิรัช ชูบำรุง และคณะ, 2528; ประไพศรี พิทักษ์ไพวัน, 2546) ซึ่งในต่างประเทศมีรายงานการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชประเภท metalaxyl ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของถั่วเหลือง (Dorrance et al., 2004) และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชประเภท copper oxychloride ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะเขือเทศ (Tomescu et al., 2002) พบว่าเกิดการดื้อยาของเชื้อโรคพืช สารเคมีเหล่านี้ยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มนุษย์ สัตว์ เป็นพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมและในผลผลิต ทำให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นเพื่อไม่ให้ปัญหานี้เกิดขึ้นในประเทศไทย วิธีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจไปสู่การแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น ซึ่งกำลังได้รับความสนใจจากทั่วโลกมากขึ้น เนื่องจากปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต งานวิจัยนี้จึงพยายามวิจัยหาแนวทางในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนส โดยใช้จุลินทรีย์ต่อต้านเพื่อลดหรือหยุดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มโอพันธุ์ทองดี.

1.2.2 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรวมจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (*Chaetomium*, *Trichoderma* และ *Penicillium*) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค และศึกษากลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคจากจุลินทรีย์

1.2.3 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพและชีวผลิตภัณฑ์ชนิดผง 4 ชนิด ซึ่งได้จากเชื้อ *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Penicillium* และ มิกซ์เจอร์ (ชีวผลิตภัณฑ์รวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน) ในการควบคุมโรครวมของส้มโอพันธุ์ทองดี ในกระถางทดลองและแปลงปลูก

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โดยทำการวิจัยเพื่อหาแนวทางในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (Microbial antagonist) ในการป้องกันกำจัดโรคที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของส้มโอ ศึกษาลักษณะอาการของโรคและลักษณะเชื้อสาเหตุโรค ศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับส้มโอของเชื้อราที่แยกได้ การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในรูปสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคของส้มโอ และศึกษากลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ รวมถึงการศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ของ คีโตเมียม, ไตรโคเดอร์มา, เพนนิซิลเลียม และการใช้ยาเชื้อร่วม (คีโตเมียม+ไตรโคเดอร์มา+เพนนิซิลเลียม) ในการควบคุมโรคของส้มโอในสภาพกระถางและแปลงทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการราวิทยา ตึกเห็ดรา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สวนคุณประยูรศรี ขาญณรงค์20/1 ม.11 แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520

ระยะเวลาที่ทำการทดลองเดือน กันยายน 2544 สิ้นสุดเดือน กรกฎาคม 2547

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ส้มโอมีชื่อสามัญว่า Pummelo เป็นไม้ผลตระกูลส้มประเภทหนึ่งที่มีถิ่นกำเนิดโดยทั่วไป มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus maxima* (Burm.) Merr. อยู่ในวงศ์ Rutaceae (วิเศษ อัครวิทยากุล, 2538)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มโอ (วิเศษ อัครวิทยากุล, 2538)

ส้มโอเป็นไม้ผลขนาดใหญ่ที่สุดของพืชตระกูลส้ม เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงกลาง ลำต้นมักเป็นเหลี่ยม ใบมีขนาดใหญ่ แผ่นก้านสาขาออกรอบ ๆ ต้นค่อนข้างไม่เป็นระเบียบ มีอายุหลายปี ความสูงของลำต้นขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ที่ปลูก สำหรับลักษณะทั่วไปของส้มโอที่เห็นได้ชัดมีดังนี้

ลำต้น : เป็นไม้ขนาดเล็กถึงกลาง ต้นสูง 5 - 15 เมตร ทรงต้นโปร่ง ลำต้นใหญ่ถึงใหญ่ กิ่งก้านสาขาแตกจะห้อยลงเป็นพุ่มสวยงาม ลักษณะของกิ่งอ่อนจะปกคลุมด้วยขนสั้นๆ และมีหนามรูปร่างอ้วนขนาดยาว 1.5 เซนติเมตร

ใบ : ส้มโอมีใบรูปไข่หรือรูปโล่ ยาว 4 - 5 นิ้ว กว้าง 2 - 12 เซนติเมตร แบ่งออกเป็นสองตอน ตอนแรกเรียกดัวใบ ตอนก้านใบเรียกหูใบ สีของใบด้านบนเขียวเข้มเป็นมัน ด้านมีสีเขียวอ่อน มีขนอ่อนปกคลุม ริมใบเรียบหรือยักเล็กน้อย เส้นใบนูนเด่นชัด

ดอก : ดอกของส้มโอออกส่วนปลายกิ่ง บริเวณซอกใบ ลักษณะเป็นช่อจัดเป็นดอกชนิดดอกเดี่ยว แต่ละช่อดอกมีจำนวน 2 - 10 ดอก มีทั้งที่เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 - 7 เซนติเมตร ส่วนประกอบของดอกมีชั้นกลีบเรียงอยู่นอกสุดจำนวน 4 - 5 กลีบ ในลักษณะเชื่อมติดกัน ถัดเข้าไปเป็นชั้นกลีบดอก มีจำนวน 4 - 5 กลีบ ต่อเข้าไปเป็นชั้นเกสรตัวผู้ เชื่อมติดกันเป็นกลุ่มๆ ประมาณ 4 - 5 กลุ่ม มีจำนวนเกสรตัวผู้ 20 - 25 อัน และชั้นในสุดเป็นเกสรตัวเมีย เป็นที่อยู่ของรังไข่ 11 - 16 ช่อง เมื่อดอกบานมีกลิ่นหอม ช่วงระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ และเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายนมีการออกดอกมากที่สุด ระยะผลิดอกถึงดอกบานใช้เวลา 25 - 30 วัน และดอกบานจนถึงผลแก่ประมาณ 180 - 210 วัน

ผล : ผลมีขนาดปลานกลางถึงขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12 - 18 เซนติเมตร สูง 14 - 18 เซนติเมตร ทรงผลมีหลายแบบ เช่น กลมมน กลมแป้น กลมสูง มีจุดคล้ายผลสาธิตี ผลขณะยังอ่อนมีสีเขียว พอแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลืองและเป็นสีทอง มีต่อมน้ำมันตามผิวเปลือกหนา 2 - 2.5 เซนติเมตร สีเปลือกด้านในเป็นสีขาวหรือสีชมพู เนื้อมีลักษณะเป็นเส้นอวบน้ำ

ยารัตตรวมตัวกันอยู่เรียกว่า กุ้ง ซึ่งภายในประกอบด้วยน้ำมีรสหวานอมเปรี้ยว ภายในแบ่งออกเป็น กลีบ 12 – 14 กลีบ ตรงกลางมีแกนแข็ง แต่บางผลไม่มี เป็นโพรงกลวงภายในผล ปริมาณผลต่อต้น ประมาณ 40 – 50 ผล

เมล็ด : เมล็ดของส้มโอค่อนข้างใหญ่ แบน เปลือกย่น ร่องเมล็ดลึก มีสีขาวอมเหลือง อยู่รวมกันตรงกลางผลรอบๆแกน บางผลไม่มีเมล็ดหรือเมล็ดลีบ หนึ่งเมล็ดสามารถเพาะต้นกล้าได้ 1 ต้น จำนวนเมล็ดในแต่ละผลจะไม่เท่ากัน

2.2 พันธุ์ส้มโอในเมืองไทย (เปรมปรี ณ สงขลา, 2538)

พันธุ์ชาวพอง : ใบรูปร่างยาวรีลักษณะมน เป็นมัน และหนา สีเขียว ขนาดผลปลานกลาง ใกล้เคียงกับผลส้มโอพันธุ์ชาวทองดี ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 13 เซนติเมตร ผลมีลักษณะกลม สูงเล็กน้อย ด้านปลายผลราบหรือเว้าเล็กน้อย ด้านหัวมีลักษณะคล้ายจุก จีบส่วนของจุกมีขนาดโตปานกลาง สูงประมาณ 1.5 – 2 เซนติเมตร ผิวด้านนอกจะเรียบบาง สีเขียวอมเหลือง กลีบภายในแยกออกจากกันได้ง่าย มีประมาณ 11 – 13 กลีบ เนื้อมีสีขาวอมเหลือง ลักษณะแห้งง่ายต่อการรับประทาน ไม่เลอะเทอะมือ ตัวกุ้งมีขนาดใหญ่และมีน้ำมาก เมล็ดมีจำนวนน้อยหรือไม่มีเลย รสชาติจะหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย

พันธุ์ชาวแป้น : ทรงพุ่มจะเตี้ย ใบจะบาง ขนาดผลโตปานกลาง ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12 - 15 เซนติเมตร สูงประมาณ 10 – 12 เซนติเมตร ผลมีลักษณะกลม แป้น ไม่มีจุกและจีบ ด้านปลายผลแบนและเว้าเล็กน้อย ผลจะมีสีค่อนข้างเขียว เปลือกมีลักษณะเรียบและหนา ติดแน่นกับเนื้อผล สีเนื้อและเปลือกในจะมีสีขาว หรือสีขาวอมเหลือง ตัวกุ้งมีน้ำหนักรวมและแยกออกจากกันได้ง่าย มีประมาณ 13 กลีบ เยื่อหุ้มแต่ละกลีบมีลักษณะหนาและเหนียว เมล็ดมีจำนวนน้อยหรือไม่มีเลย รสชาติจะหวานอมเปรี้ยวและขมเล็กน้อย

พันธุ์ทองดี : ขนาดผลโตปานกลาง ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14 - 16 เซนติเมตร สูงประมาณ 12 – 14 เซนติเมตร ผลมีลักษณะกลม แป้น ไม่มีจุก มีจีบเล็กน้อยบริเวณหัวผล หรืออาจจะไม่มี ด้านปลายผลแบน เปลือกมีลักษณะบาง หนาประมาณ 1.2 เซนติเมตร สีเนื้อและเปลือกในจะมีสีชมพูอ่อน เนื้อผลมีประมาณ 14 - 16 กลีบ มีลักษณะนุ่มฉ่ำน้ำและฉะ เมล็ดมีจำนวนปานกลางถึงจำนวนมาก แต่มีขนาดเล็ก รสชาติหวานฉ่ำ

พันธุ์ชาวใหญ่ : สีเนื้อและเปลือกในจะมีสีขาว ขนาดผลใหญ่ น้ำหนัก 3 – 4 กิโลกรัมต่อผล ทรงกลมสูง ไม่มีจุก ลาง ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14 - 15 เซนติเมตร เปลือกมีลักษณะเรียบและหนาปานกลาง สีเขียวอมเหลือง มีประมาณ 14 กลีบ ตัวกุ้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดของกุ้งค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่น มีน้ำมากแต่ไม่ฉ่ำ เมล็ดมีจำนวนน้อย รสชาติหวานกรอบ อมเปรี้ยวเล็กน้อย

พันธุ์ขาวหอม : เป็นส้มโอที่มีกลิ่นหอม ผลทรงกลม ขนาดผลโตปานกลาง ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14 - 18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14 เซนติเมตร ไม่มีจุกและจีบ มีด้านปลายผลแบน เปลือกมีลักษณะเรียบและบาง สีเขียวอมเหลืองอ่อน ต่อม้าน้ำมันมีขนาดเล็กละเอียด เปลือกขาว มีประมาณ 13 กลีบ เยื่อหุ้มกลีบสีขาว ตัวกุ่มมีสีขาวอมเหลือง ขนาดเล็กเบียดกันแน่น ไม่ฉ่ำ เมล็ดมีจำนวนปานกลางหรือไม่มีเลย รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย

พันธุ์ท่าซ้อย : หรือพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ผลทรงกลมสูง ขนาดผลใหญ่ ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 - 18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14 - 16 เซนติเมตร ไม่มีจุก แต่มีจีบเล็กน้อย กันจะเรียบถึงหัวเล็กน้อย เปลือกมีลักษณะหนาและหยาบ สีเหลืองอ่อน มีประมาณ 12 - 14 กลีบ ตัวกุ่มมีสีชมพูอ่อน ขนาดใหญ่เบียดกันแน่น ฉ่ำน้ำ เมล็ดมีจำนวนน้อย รสชาติหวานอมเปรี้ยวและมีกลิ่นเฉพาะตัว

พันธุ์ปัตตาเวีย : เป็นส้มโอที่นิยมปลูกมากทางภาคใต้ ผลทรงกลมแป้น ขนาดผลใหญ่ ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14 - 16 เซนติเมตร สูงประมาณ 12 - 14 เซนติเมตร ไม่มีจุก แต่มีจีบเล็กน้อย เปลือกมีลักษณะบาง สีเขียวอมเหลือง มีประมาณ 14 กลีบ ตัวกุ่มมีสีชมพูอ่อน ขนาดใหญ่เบียดกันแน่น ฉ่ำน้ำ เมล็ดมีจำนวนน้อย รสชาติหวาน

พันธุ์ขาวแตงกวา : ผลทรงกลมสูง ขนาดผลใหญ่ ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 - 18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14 - 16 เซนติเมตร ไม่มีจุก แต่มีจีบเล็กน้อย กันจะเรียบถึงหัวเล็กน้อย เปลือกมีลักษณะเรียบ สีเขียว ขนาดต่อมน้ำมันปานกลาง มีประมาณ 12 - 15 กลีบ ตัวกุ่มมีสีน้ำผึ้ง ขนาดใหญ่เบียดกันแน่น ไม่ฉ่ำน้ำ เมล็ดมีจำนวนน้อย รสชาติหวานกรอบอมเปรี้ยว

พันธุ์ทับทิม : มีเนื้อสีแดงกว่าพันธุ์อื่นๆ รสชาติจะเปรี้ยว

พันธุ์มรกต : ผลทรงคล้ายพันธุ์ทองดี ขนาดค่อนข้างเล็ก ผลมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 13.66 เซนติเมตร มีประมาณ 16 กลีบ ตัวกุ่มมีสีน้ำผึ้ง เมล็ดมีจำนวนมาก รสชาติหวาน

2.3 ปัญหาโรคและแมลงศัตรูสำคัญของส้มโอ

ปัญหาสำคัญที่ทำให้แหล่งปลูกส้มโอหลาย ๆ แห่งต้องล้มเลิกไปนั้นสาเหตุเกิดจากโรคระบาดและแมลงเข้าทำลาย ทำให้สวนส้มโอทรุดโทรมและต้นตายเป็นจำนวนมาก สำหรับโรคของส้มโอที่พบมากได้แก่ โรครากรเน่าโคนเน่า โรคแอนแทรคโนส โรคแคงเกอร์ โรคทริสเทซา โรคใบแก้ว โรคราดำ โรคยางไหล เป็นต้น ซึ่งเป็นโรคที่ผู้ปลูกส้มโอควรรู้จัก และหาวิธีการป้องกันกำจัดไว้ล่วงหน้าก่อนที่โรคจะระบาด ส่วนแมลงที่มีความสำคัญ ได้แก่ หนอนขนใบ หนอนกินใบ เพลี้ยไฟ ไรแดง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย เป็นต้น

2.3.1 โรคของส้มโอ

โรคแอนแทรคโนส : สาเหตุโรคเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Chandrasrikul, 1962; วิรัช ชูบำรุง และคณะ, 2528; ประไพศรี พิทักษ์ไพวัน, 2546) สามารถสร้างสปอร์ขนาดเล็กจำนวนมาก สปอร์แก่จะแพร่ไปกับลม สามารถเข้าทำลายผลและใบ ผลมักจะเกิดด้านใดด้านหนึ่งของใบ ผล necrotic มีรูปร่างกลมหรือรูปร่างไม่แน่นอน สีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลเข้ม มี concentric circles ซึ่งเป็นส่วนที่สร้าง spore mass สีส้ม (Latinovic et al., 2002) ขอบแผลนูนและเป็นมันกว่ากลางแผลเล็กน้อย ทำให้ดูคล้ายแผลบุ๋มลงไป ส่วนอาการที่ผล มีอาการคล้ายที่ใบ แต่มีขนาดแผลใหญ่กว่า แผลจะยุบตัวลงไป เนื้อ มักพบแผลเป็นทางยาวจากหัวผลลงมา (สุวิทย์ ชื่นสิทธิ์, 2531)

โรคเน่าโคนเน่า : มีรายงานว่าโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (วิเชียร กำจายภัย และ สุพัตรา อินทวิมลศรี, 2526) และ *P. parasitica* (Ann et al., 2004) ต้นส้มโอจะแสดงคือ ลำต้นระดับโคนมีลักษณะฉ่ำน้ำ มียางสีครีมหรือสีน้ำตาลไหลซึม เนื้อไม้บริเวณนั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลต้นจะแสดงอาการใบเหลืองร่วง ใบร่วงมาก กิ่งแห้งตาย (นิพนธ์ วิสารทนนท์ และ จักรพงษ์ เจริญศิริ, 2541)

โรคแคงเกอร์ : หรือโรคช้ำกลาก สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse) สามารถเข้าทำลายใบอ่อน กิ่งอ่อนและผลส้มโอ เริ่มแรกแผลจะเห็นเป็นจุดกลมและฉ่ำน้ำใหญ่ ขนาดเท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาแผลจะขยายใหญ่ขึ้น ลักษณะขรุขระเล็กน้อย แผลตกละเอียดจะเห็นได้ทั้งด้านหน้าและด้านหลังของใบ โดยจะมีวงฉ่ำน้ำใหญ่อยู่รอบๆแผลตกละเอียดนั้น แผลขยายใหญ่ขึ้นและมองเห็นเป็นวงซ้อนๆกัน เมื่อใบเกิดแผลหลายจุดทำให้เกิดใบไหม้และร่วงหล่น บนกิ่งแผลจะมีลักษณะแห้งตกละเอียดสีน้ำตาลลูกกลมตามความยาวของกิ่ง เมื่อเกิดโรครุนแรงทำให้ต้นแคระแกร็น กิ่งแห้งตาย ผลอ่อนจุดแผลทำให้ผลแตกหรือผลร่วงได้ โรคนี้ระบาดรุนแรง ในฤดูฝน หากมีหอนอนชอนใบทำให้การระบาดรุนแรงยิ่งขึ้น (ชะลอ ชำนาญพิทักษ์, 2539)

โรคทริลเดซ่า : เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส อาการที่ใบคล้ายกับอาการที่ใบของโรคกรีนนิง และโรคใบแก้ว แต่ก็สามารถแยกได้คือที่ใบอ่อนใบจะเหลือง ค้าง มีขนาดเล็กผิดปกติ ใบบิดเบี้ยว ปลายใบโค้งงอขึ้น เส้นใบของใบอ่อนที่เป็นโรคนี้จะโปร่งใสต่อกันเป็นจำนวนมาก ใบอ่อนร่วงง่าย แสดงอาการจากปลายกิ่งหรือปลายดอกลงมา เปลือกลำต้นไม่เรียบ เมื่อลอกเปลือกออกมาจะเห็นเนื้อไม้เป็นร่องสีน้ำตาล และทำให้ผลเล็กลง สีของเปลือกผลต่างเขียว สลับเหลือง (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2531)

2.3.2 แมลงศัตรูของส้มโอ (เปรมปรีณ สงขลา, 2538)

หนอนขนใบส้ม (citrus leafminer) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Phyllocnistidae) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของส้มโอโดยตัวหนอนจะทำลายใบอ่อน และยอดอ่อน จะเข้าทำลายส้มโอในระยะที่แตกใบอ่อน มากที่สุดโดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ไว้ที่บริเวณผิวใบเมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน ตัวหนอนก็จะซ่อนไซกินอยู่ระหว่างผิวใบทั้งหน้าใบ และหลังใบจะกัดทำลายเนื้อเยื่อ ชั้นพาลิเลสซึ่งเป็นชั้นที่มีคลอโรฟิลล์สำหรับพืชใช้สังเคราะห์แสง การเคลื่อนที่ของตัวหนอนจะไปตามโพรงในชั้นพาลิเลสที่กัดกินเป็นทางคดเคี้ยวไปมาและมีสีขาว ชุ่ม และตัวหนอนจะเข้าดักแด้ที่ริมใบโดยพบใบเข้าห่อหุ้มตัวเอาไว้ เพื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป ใบที่ถูกทำลายจะหงิกงอบิดพริ้วแห้งและร่วงเหลือแต่ก้านหากมีการระบาดรุนแรงจะทำให้ต้นส้มโอ แคระแกรนไม่ติดผล นอกจากมีรอยแผลที่ถูกทำลายยังทำให้เชื้อสาเหตุของโรคแคงเกอร์เข้าทำลายได้ง่ายอีกด้วย

หนอนกินใบหรือหนอนแก้วส้ม (citrus butterfly) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Papilio demoleus* (Lepidoptera : Papilionidae) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของส้มโออีกชนิดหนึ่ง โดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยว ๆ ตามยอดอ่อนและใบอ่อน เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน และตัวหนอนจะเริ่มกัดกินใบอ่อนและยอดอ่อนทันทีแต่ระยะนี้จะทำลายช้า ๆ จนกระทั่งเมื่อหนอนอายุได้ประมาณ 5 - 6 วัน การทำลายจะรวดเร็วมากเพราะเป็นระยะที่หนอนกินจุ ซึ่งจะกินติดต่อกันทั้งกลางวันและกลางคืนทำให้ใบอ่อนแห้งงา ถ้าใบอ่อนไม่พบนอนก็จะกัดกินยอดอ่อนและใบแก่ ทำให้ส้มโอชะงักการเจริญเติบโตโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นส้มโอที่ปลูกใหม่อาจตายได้ หากหนอนระบาดมาก ทำให้ส่วนใบอ่อนและยอดอ่อนไม่เหลือเลย การทำลายจะรวดเร็ว มากเพราะในระยะเพียง 2 - 3 วัน หนอนสามารถกัดกินใบอ่อนหมดทั้งต้นได้

เพลี้ยไฟพริก (chili thrips) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera : Thripidae) เป็นแมลงจำพวกปากดูดขนาดเล็ก เพลี้ยไฟจะเข้าทำลายได้ทั้ง ยอดอ่อน ใบอ่อน ดอกและผลและการทำลายจะรุนแรง ในระยะผลอ่อน โดยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ดังกล่าว หากเพลี้ยไฟดูดกินน้ำเลี้ยง จากใบและยอดอ่อนจะทำให้ต้นส้มโอชะงักการเจริญเติบโตแคระแกรนใบบิดเบี้ยวเสียรูปทรงของต้นและกิ่งอาจคดงอได้ หากเพลี้ยไฟเข้าทำลายในระยะออกดอกอาจทำให้ดอกร่วงและติดผลน้อยหรือไม่ติดผล ถ้าเพลี้ยไฟเข้าทำลายผลที่เฟื่องหรือผลอ่อนจะทำให้ผิวส้มโอเป็นแผลกร้าน เมื่อผลโตขึ้น แผลนั้นก็ยังคงอยู่แต่เป็นแผลตื้น ๆ สังเกตได้ง่ายคือผลเป็นวงกร้านสีเทา หรือน้ำตาลรอบ ๆ ขั้วผลหรือใกล้ขั้วผล และก้านผลหรือมีลักษณะเป็นขีดสีเทา ตามความยาวของผล ซึ่งชาวสวนมักเรียกโรคนี้ที่เกิดบนผลว่า ซีกกลาก สำหรับผลที่ถูกทำลายรุนแรงอาจทำให้ผลแคระแกรนรูปปร่างบิดเบี้ยวและไม่เจริญเติบโต

ไรแดงแอฟริกัน (African red mite) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eutetranychus africanus*, (Acarina : Tetranychus) เป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของส้มโอกพบในช่วงฤดูแล้ง โดยตัวตัวอ่อนและตัวเต็มวัยใช้ปากดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดอ่อนทำให้ใบมีสีเขียวอ่อนหากการทำลายเป็นไปอย่างรุนแรงใบหรือยอดอ่อนจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีเขียวซีดเป็นสีน้ำตาลใบหงิกงอไม่เจริญเติบโตและร่วงหลุดไปในที่สุด สำหรับผลส้มโอที่ถูกไรแดงทำลายและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเงิน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา ผิวกร้านแฉะแฉกรวมและร่วงในที่สุด

เพลี้ยอ่อน (black citrus aphid) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Toxoptera aurantii* (Homoptera : Aphididae) เป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก โดยทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนกิ่งอ่อนและยอดทำให้ใบและกิ่งอ่อนหงิกงอชะงักการเจริญเติบโตทำให้ยอดเหี่ยวคดงอและในขณะเพลี้ยอ่อนดูดน้ำเลี้ยงนั้นมันก็จะขับถ่ายของเหลวซึ่งมีลักษณะเหนียว ๆ เกาะติดตามใบ ทำให้เกิดอาการเหนียวเหนอะซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดรากดำขึ้นปกคลุมใบได้อย่างรวดเร็ว

2.4 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือการลดกิจกรรมของการเกิดโรคของเชื้อโรค หรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโต หรือระยะพักตัวด้วยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง หรือมากกว่าเข้ามาทำลาย ป้องกันกำจัด เพื่อบรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม พืชอาศัย ปัจจุบันมีการศึกษานำเชื้อราที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonist) มาควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชกันมากมาย เช่น การใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ซึ่งจุลินทรีย์ต่อต้านเหล่านี้มีกลไกการควบคุมโดยชีววิธี ดังนี้ คือ (เกษม สร้อยทอง, 2532ก)

1. การแข่งขันซึ่งกันและกัน (competition) ปกติในสภาพธรรมชาติของระบบนิเวศในดิน มีสิ่งมีชีวิตดำรงชีวิตอยู่จำนวนมากได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย โปรโตซัว ไส้เดือนฝอย ไส้เดือนดิน และแมลง สิ่งมีชีวิตเหล่านี้ดำรงชีวิตอยู่ได้ต้องอาศัยอาหาร ซึ่งการได้มาของอาหารจะแตกต่างกัน จึงมีการแข่งขันการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ โดยการแย่งอาหารที่เป็นอินทรีย์วัตถุที่อยู่ในดิน เช่น เชื้อราสามารถดูดซับอาหารจากสารละลายอินทรีย์ภายในดินหรือสารอินทรีย์ที่ปลดปล่อยออกมาจากรากพืช ดังนั้นอินทรีย์วัตถุอินทรีย์และซากพืชซากสัตว์ในดินจึงมีประโยชน์มากต่อสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ สิ่งมีชีวิตใดเจริญเติบโตได้ดีกว่าจึงหมายถึงมีความสามารถแย่งอาหารได้ดีกว่าเป็นลักษณะการควบคุมโดยชีววิธีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น การใช้เชื้อรา *Chaetomium* สามารถลดจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโชคอนันต์ (สุมิตรา น้อยเยี่ยม, 2540) *C. gloeosporioides* สาเหตุโรค

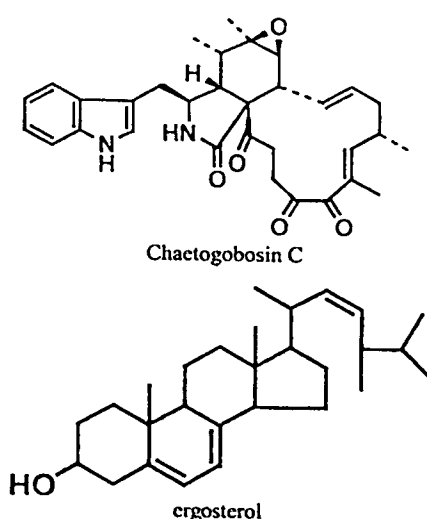
แอนแทรคโนสขององุ่น (Srinon and Soyong, 2004) *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่ามะนาว และเพิ่มจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อ *Chaetomium* spp. เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง (วนรักษ์ มีฟุ้ง, 2547)

Trichoderma harzianum. สามารถยับยั้งการงอกของ teliospore ของเชื้อ *Ustilago scitaminea* เป็นเชื้อสาเหตุโรคอ้อย และสามารถลดจำนวนประชากรของเชื้อก่อโรค คือ *U.scitaminea*, *Fusarium equiseti*, *F. moniliforme*, *F. subglutinans*, *Thielaviopsis paradoxa* ที่อยู่บริเวณรากต้นอ้อยได้ (Martinez et al., 1998) และสามารถลดจำนวนประชากรของเชื้อ *F. sporum* ที่อาศัยในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Hassan and Gowen, 2003) การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* สามารถลดจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (สุมิตร น้อยเอี่ยม, 2540) *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสขององุ่น (วิไลรัตน์ ศรีนนท์, 2546) *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่ามะนาว และเพิ่มจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อ *Chaetomium* spp. เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง (วนรักษ์ มีฟุ้ง, 2547)

การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Penicillium* สามารถลดจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสขององุ่น (วิไลรัตน์ ศรีนนท์, 2546) *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่ามะนาว และเพิ่มจำนวนประชากรที่อยู่ในดินของเชื้อ *Chaetomium* spp. เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง (วนรักษ์ มีฟุ้ง, 2547)

2. ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) จุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืช ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยการดูดซับสารละลายอินทรีย์เป็นอาหารในการเจริญแพร่พันธุ์และปลดปล่อยสารพิษ(toxin) หรือสารปฏิชีวนะ(antibiotic substances) ออกมาภายนอก และสารดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่บริเวณนั้น มีผลทำให้เซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชตาย ลดปริมาณลง อ่อนแอลง ความสามารถในการเกิดโรคลดลง ดังนั้นจึงมีการวิจัยคัดเลือกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารพิษ(toxin) หรือสารปฏิชีวนะ(antibiotic substances) ชนิดใดที่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ ในส่วนเชื้อ *Chaetomium* spp. มีการวิจัยพบว่าเชื้อ *Chaetomium* spp. แต่ละ species มีการสร้างสารปฏิชีวนะแตกต่างกัน โดยเชื้อรา *Ch. cupreum* มีการสร้างสาร 2-(buta-1, 3-dienyl) 3-hydroxy-4-(penta-1, 3-dienyl)-tetrahydrofuran (BHT), epidithiadiketopiperazine และ chaetomin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้ (Di Pietro et al., 1992) สารปฏิชีวนะ Chaetocuprin ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้ง

การเจริญของเส้นใย และยับยั้งการสร้างสปอร์ *C. gloeosporioides* ได้ 89.09 และ 96.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (วีระณีย์ ศรีพรมสุข และคณะ, 2539) และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีของเชื้อ *C. dematium* (โรคแอนแทรกโนสของพริก) *C. gloeosporioides* (โรค แอนแทรกโนส ของส้ม) โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 86.31 และ 3306.20 ตามลำดับ (เมทินี ประชุมชน, 2541) สารปฏิชีวนะ Rotiorinol สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โรคแอนแทรกโนสขององุ่น (วิไลรัตน์ ศรีนนท์ และ เกษม สร้อยทอง, 2545) *C. gloeosporioides* โรคแอนแทรกโนสของส้ม และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน (ศรีสวาท ศรีสุพรรณ, 2541) เมื่อนำมาฉีดพ่นบนต้นกล้าที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* สามารถทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงและต้านทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าได้ และหลังจากที่ treated เป็นเวลา 30 วัน (Treetong et al., 2000) สารปฏิชีวนะ Chaetoglobosin - C สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสของส้มโชกุน (Konokmedhakul et al., 2004) เมื่อฉีดพ่นบนต้นกล้าที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุนที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* สามารถทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงและต้านทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าได้ และหลังจากที่ treated เป็นเวลา 30 วัน (Treetong et al., 2000) สารปฏิชีวนะ ergosterol สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* *C. gloeosporioides* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และ โรคแอนแทรกโนสของส้มโชกุน *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยว (Srinon et al., 2004)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Chaetoglobosin C และ ergosterol (Soytong et al., 2001)

สารปฏิชีวนะ Trichothoxin 9 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* *C. gloeosporioides* และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า โรคแอนแทรคโนสของส้มโชกุน และโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน (Konokmedhakul et al., 2004)

3. ขบวนการของปรสิต (parasitism) และการทำลายเชื้อโรค (lysis) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน parasitism หมายถึงการที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดเจริญบนจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคทำให้เกิดโรค โดยดูดน้ำเลี้ยงหรือได้รับอาหารโดยตรงจากเชื้อสาเหตุโรค และ lysis หมายถึงการสลายตัวเชื้อสาเหตุโรค เนื่องจากไม่สามารถรวมเข้ากันได้ของสารแปลกปลอมที่วิ่งผ่านเข้าผนังเซลล์ หรือเกิดจากสภาพความเครียด (stress conditiogn) เช่น ความแห้งแล้ง น้ำท่วมขัง เป็นต้น ซึ่งสารประกอบหรือส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ของเชื้อโรคจะเกิดการเน่าสลายและตายในที่สุด เชื้อรา *Ch. gracile* ในการยับยั้งโรคเหี่ยวของที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici* โดยวิธี bi-culture test พบว่าเชื้อรา *Ch. gracile* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f sp. *lycopersici* ได้ 52 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาความเป็น antagonist ภายในใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธี slide bi-culture พบว่า conidia ของเชื้อรา *F. oxysporum* f sp. *lycopersici* เซลล์แตกและมีการไหลทะลักของ protoplast ออกนอกเซลล์ และมีการจับเป็นก้อนภายในเซลล์ (เกษม สร้อยทอง, 2534 ก) *Ch. cupreum* สามารถทำให้ maroconidia และเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f sp. *lycopersici* เกิดการแตกและ protoplast ไหลออกมาจากเซลล์ (Soytong, 1992b)

มีรายงานว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* และ *T. hamatum* จะเข้าทำลายเชื้อ *S. rolfii* และ *R. solani* สาเหตุโรครากเน่าและใบไหม้ของสตรอเบอร์รี่ โดยการสร้างเส้นใยเป็น coils พันล้อมรอบเส้นใย และสร้าง hook หรือ appressorium เกาะติดบนเส้นใยของ host และมีการย่อยสลายเป็นรูทำให้เชื้อสาเหตุโรคเสื่อมสภาพ (Elad et al., 1980) สาร volatile metabolite ของเชื้อรา *T. harzianum* มีผลต่อการลดการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม และมีการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายในเซลล์ เกิด lysis ที่ปลายเส้นใยของเชื้อรา ทำให้เชื้อรา *P. parasitica* เสื่อมสภาพ (Erwin et al., 1983) และยังมีผลต่อเชื้อ *Fusarium acuminatum*, *F. solani*, *F. equiseti* และ *S. cepivorum* เชื้อสาเหตุโรคทางรากของหัวหอม โดยทำให้เส้นใยงอ แล้วเกิดการ lysis (Peyghami, 2001) เชื้อราสาเหตุโรคกับต้นยาสูบคือ *Pythium aphanidermatum*, *P. myriotylum* เลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* บนจานอาหาร พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* จะปล่อยสาร β -(1,3)-glucanase จาก cell wall และเมื่อนำ *T. harzianum* คลุกดินและเพาะเมล็ดยาสูบ มีผลทำให้เชื้อรา *Pythium* spp. ในดินลดลง (Devaki et al., 1992) เชื้อรา *T. harzianum* สร้างเอนไซม์ lytic enzyme β -1,3-glucanase, chitinolytic enzyme poly [β -1,4-(2-acetamido-2-deoxy-D-glucoside)-glucanhydrolase] และ

β -1,4-N-acetylglucosaminidase ซึ่งสามารถทำลายผนังเซลล์และลดความรุนแรงของการเกิดโรคเชื้อรา (Haran *et al.*, 1995) เส้นใยของเชื้อ *T. harzianum* แทะเข้าระหว่างเส้นใยของเชื้อ *Rhizoctonia solani* ที่ก่อให้เกิดโรคขอบใบไหม้ของข้าว ซึ่งจะทำให้ sclerotia ของเชื้อ *R. solani* เสียรูปร่างและยุบตัว (Cumagun and Ilag, 1997) *T. harzianum* TCIII สร้างสาร metabolites ส่งผลให้เส้นใยของเชื้อ *Verticillium dahliae* มีรูปร่างแบบ coiling และ hook (Corder and Melo, 1998) *T. harzianum* สามารถสร้างเอนไซม์ chitinases ที่มีผลต่อเชื้อสาเหตุ *Rhizotonia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Ustilago*, *Venturia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Botrytis* (Xu and Liu, 2002) เมื่อนำ *T. harzianum* T5 มาเลี้ยงในอาหารที่ผสม chitin และ cell wall ของเชื้อ *C. falcatum* สาเหตุโรคได้แดงของอ้อย พบว่า *T. harzianum* T5 มีการสร้าง N-acetylglucosaminidase และ β -1,3-glucanase เพิ่มขึ้น เอนไซม์ที่ *T. harzianum* T5 สร้างขึ้นสามารถทำให้เส้นใยของ *C. falcatum* เกิดการ lysis (Viswanathan *et al.*, 2004) เชื้อ *T. viride* ในการเป็น antagonists และ mycoparasite ของเชื้อรา *Phytophthora* ทั้ง 4 species คือ *P. cactorum*, *P. cinnamoni*, *P. fragariae*, และ *P. nicotinae* พบว่า *Ch. globosum* สามารถเจริญครอบคลุมบนโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* และสามารถทำลายเซลล์ของเชื้อให้แตกและเสื่อมสภาพได้ (Heller and Theiler, 1994)

สาร extracellular compound ของ *P. purpurescens* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas solanacearum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรค bacterial wilt ของมะเขือเทศ (Suresh and Rai, 1992) และสาร beta-1, 3-glucanase และ chitinase สามารถย่อยสลายเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *Monilinia laxa* ได้ ซึ่งสามารถทำให้เซลล์แตกได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศให้เหลือเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ (Larena and Melgarejo, 1996) เชื้อ *P. pinophilum* สามารถป้องกันการเกิดโรคได้โดยการทำลายเซลล์ (lysis) ของเชื้อ *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคเน่าคอดินของฝ้าย (Alagesaboopathi, 1994) conidial suspension ของเชื้อ *P. oxalicum* ลดการสร้าง sclerotia ของเชื้อ *R. solani* ที่ก่อให้เกิดโรคขอบใบไหม้ของข้าว และเส้นใยของ *P. oxalicum* สามารถทะผ่านเข้าระหว่างของเส้นใย *R. solani* ซึ่งจะทำให้ sclerotia ของเชื้อ *R. solani* เสียรูปร่างและยุบตัว (Cumagun and Ilag, 1997) ใน slide culture พบว่า *P. oxalicum* และ *P. pinophilum* สามารถทำให้เส้นใยและ germ tubes ของ *F. oxysporum* f.sp. *ciceri* เกิดการ lysis (Dhedhi, 2001)

4. การขัดขวางการเจริญเติบโตของเส้นใย (hyphal interference) หมายถึงจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถเจริญพันรัดเส้นใยหรือโครงสร้างต่างๆ มีผลต่อการรบกวนหรือขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค ทำให้เชื้อสาเหตุโรคเจริญผิดปกติ เสียรูปร่าง ความสามารถในการ

การซึมผ่านของของเหลวสู่เซลล์สูญเสีย บางชนิดสามารถเจริญแทงผ่านผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรค เช่นเชื้อ *Chaetomium globosum* และ *Ch. cupreum* มีการพันรัดของเส้นใย และทำให้เส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกในสของปรง แตกสลาย และการสร้างสารปฏิชีวนะในการทำลายเชื้อสาเหตุโรค (Klakpech and Soyong, 2000)

เชื้อ *Trichoderma viride* จะเจริญพันรัด และแทงเส้นใยเข้าเส้นใยของเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* สาเหตุโรคเน่าคอดินของงา (Chung and Choi, 1990) *Fusarium moniliforme* สาเหตุโรคเหี่ยวของอ้อย (Gohil and Vala, 1996) *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรค charcoal rot ของถั่วลิสง ทำให้เซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคถูกทำลาย (lysis) เกิดการแตกสลาย และเปลี่ยนรูปไปจากเดิม (Maheshwari, 2001) *T. hamatum* เป็น Mycoparasitism เจริญเข้าปกคลุม และพันรัดรอบ เส้นใยของ *Phytophthora* และจะผลิต antibiotic ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. cinnamomi* และ *P. citricola* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของเกาลัด (Chambers and Scot, 1995) *T. hamatum* สามารถทำลาย sclerotium ของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* โดยเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจะแทงทะลุผ่านผนังของ sclerotial และสร้างสปอร์อยู่ข้างใน (Suseelendra and Schlosser, 1999) *T. harzianum* สามารถเจริญบนเชื้อโรคได้ สร้างเส้นใยมาพันรัดเชื้อ *Fusarium moniliforme* สาเหตุโรคเหี่ยวของอ้อย และทำลายเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคได้ (lysis) (Gohil and Vala, 1996) เส้นใยของ *T. harzianum* จะเข้าไปพันรัดเส้นใย *R. solani* สาเหตุโรคโคนเน่าของพริก จนเส้นใย *R. solani* เกิดการ lysis (Mathur and Gurjar, 2002) *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Thielaviopsis paradoxa* โดยเส้นใยของ *T. harzianum* จะเข้าไปพันรัดเส้นใย, chlamydospore และ endoconidia ของ *T. paradoxa* แล้วเส้นใยของ *T. harzianum* แทงผ่านเข้าไป ต่อจากนั้น protoplasm ของเส้นใย, chlamydospore และ endoconidia จะเกิดการ lysis (Ramanujam, 2002)

5. การชักนำให้เกิดภูมิต้านทาน (induced disease resistance) การชักนำให้พืชป้องกันตนเองโดยการปลูกเชื้อหรือการใช้สารเคมีบางชนิดทำให้พืชเกิดการต้านทานโรคเฉพาะแห่งหรือกระจายทั่วต้น ซึ่งในธรรมชาติพืชไม่สามารถสร้างภูมิต้านทานได้เอง ต้องอาศัยการชักนำจากสารเคมีเช่น DL-beta-amino-n-butyric acid (BABA) สามารถชักนำให้พริกเกิดภูมิต้านทานแบบ local และ systemic resistance ต่อเชื้อ *Colletotrichum coccides* โดยทำการพ่นบริเวณใบและพ่นลงดินโคนต้น (Micherereft *et al.*, 1993) กรด salicylic ฉีดพ่นในอัตรา 5.0 – 50 µg/ml สามารถชักนำให้ต้นข้าวเกิดความต้านทานแบบ systemic resistance ต่อโรคใบไหม้ของต้นกล้า ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Liu and Wang, 2000) สารสกัดจากใบ *Azadirachta indica* และ *Acalypha indica* สามารถชักนำให้ต้นชา *Camellia*

sinensis สร้างเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase, Chitinase, β -1,3 glucanase, Peroxidase และ Polyphenol oxidase ส่งผลให้พืชมีการต้านทานเชื้อ *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรค diplodia (Saha et al., 2004) Jasmonic 0.01 mM ผสมกับ nutrient solution พ่นบริเวณใบมะเขือเทศพันธุ์ Momotaro สามารถชักนำให้พืชเกิดภูมิต้านทานโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* (Koohakan et al., 2004)

และยังมีการใช้เชื้อราชักนำให้พืชเกิดภูมิต้านทาน *Chaetomium globosum* มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดความต้านทานเชื้อ *Colletotrichum falcatum* สาเหตุโรค red rot ของอ้อย เมื่อทำการ inoculated เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการ inoculated เชื้อโรค (Anil et al., 2001) เชื้อ *Ch. globosum* สามารถชักนำให้ข้าวสาลีเกิดความต้านทานโรค spot blotch โดย treat spores และ crude extract ของเชื้อ *Ch. globosum* บนต้นกล้าต้นข้าวสาลี ก่อนการปลูก เชื้อ *Drechsler korokiniana* ที่ความเข้มข้น 10^4 conidia/ml พบว่าสามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรคได้ (Biswas et al., 2002) crude extract ของเชื้อ *Ch. globosum* สามารถลดอาการ spot blotch ของข้าวสาลีที่เกิดจากเชื้อ *Bipolaris sorokiniana* โดยการพ่น crude extract กระตุ้นให้ต้นกล้าสร้างสาร phenol (Biswas et al., 2003) สารปฏิชีวนะ Chaetoglobocin-c จากเชื้อรา *Ch. globosum* CG ให้ผลในการชักนำการเกิดภูมิคุ้มโรครากเน่าโคนเน่าของสับปะรดดีกว่า Trichotoxin A-50 จากเชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ Rotiolinol จากเชื้อรา *Ch. cupreum* CC ซึ่ง Chaetoglobocin-c ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm. ให้ผลการชักนำสูงสุด โดยต้นกล้าไม่แสดงอาการโรครากเน่าโคนเน่า รองลงมา Rotiolinol และ Trichotoxin A-50 (วิเชียร ดีทอง, 2543) สารสกัดจาก *Ch. globosum* ที่ใช้ Hexane เป็นตัวทำละลาย สารสกัดจาก *Ch. cupreum* ที่ใช้ Metanol เป็นตัวทำละลาย สามารถชักนำให้ส้มเกิดความต้านทานโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides* (Suwannapong and Soyong, 2004)

การใช้ *Trichoderma harzianum* และ *T. viride*, มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดความต้านทานเชื้อ *Colletotrichum falcatum* สาเหตุโรค red rot ของอ้อย พบว่า antagonists เมื่อทำการ inoculated เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการ inoculated เชื้อโรค (Anil et al., 2001) *T. harzianum* NF9 ชักนำให้ข้าวพันธุ์ Yuanfengzao มีความต้านทานต่อโรค blast ที่เกิดจากเชื้อ *Magnaporthe grisea* และโรค bacterial leaf blight ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* หลังการพ่น *T. harzianum* NF9 แล้ว 120 ชั่วโมงจึงทำการปลูกเชื้อ *M. grisea* พบว่าพืชมีการสร้าง phenylalanine ammonia-lyase (PAL) สูงกว่าต้นที่ไม่ได้พ่น *T. harzianum* NF9 แต่การสร้าง peroxidase (POD) ไม่แตกต่างกัน ส่วนการปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* พบว่าพืชมีการสร้าง POD สูงกว่าต้นที่ไม่ได้พ่น *T. harzianum* NF9 แต่การสร้าง PAL ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการพ่น *T. harzianum* NF9 เป็นการกระตุ้นให้พืชสร้าง PAL และ POD (Nzoyibiri et

al., 2003) conida suspension และ culture filtrate ของ *T. harzianum* P1 สามารถชักนำให้ข้าวเกิดความต้านทานโรค blast ที่เกิดจากเชื้อ *M. grisea* (Ngueko et al., 2002) conida suspension ของ *T. harzianum* T39 สามารถชักนำให้แตงและถั่วเกิดภูมิต้านทานโรค white mould ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotinia sclerotiorum* โดยการพ่นที่บริเวณราก ทำให้รากส่ง signal ไปยังบริเวณใบให้ต้านทานต่อโรค (Elad et al., 2002) conida suspension ของ *T. harzianum* สามารถชักนำให้ข้าวเกิดความต้านทานโรค necrosis ที่เกิดจากเชื้อ *Phthophthora capsici* โดยการแช่รากใน conida suspension การขยายตัวของแผลจะลดลง หลังจากการทดลอง 6 วันพบว่าที่บริเวณแผลไม่พบ capsidiol ซึ่งเป็น toxin ของเชื้อสาเหตุโรค (Ahmed et al., 2002) *T. asperellum* T-203 ผสมกับดิน สามารถลดการเกิดโรคใบจุดของแตงกวา ที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ จึงนำ *T. asperellum* T-203 มาศึกษากลไกการทำงานในห้องปฏิบัติการ พบว่า *T. asperellum* T-203 ไปกระตุ้น phenylpropanoid pathway gene ให้ encoding phenylalanine ammonia lyase (PAL) และ the lipoxygenase pathway gene ให้ encoding hydroxyperoxide lyase (HPL) เพื่อสร้างสาร phenolic ที่อยู่ในรูป agycone ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. syringae* pv. *lachrymans* (Yedida et al., 2003) สารสกัดจาก *T. harzianum* และ *T. hamatum* ที่ใช้ Metanol เป็นตัวทำละลาย สามารถชักนำให้ส้มเกิดความต้านทานโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides* (Suwannapong and Soyong, 2004)

การใช้เชื้อ *Penicillium oxalicum* ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersicid* โดยนำเมล็ดมาคลุกก่อนการปลูก 30 นาที (Garcia et al., 1998) หรือฉีดพ่นด้วย spore suspension บนต้นมะเขือเทศ จะไปกระตุ้นการผลิต kinetin และ gibberellic ทำให้ระบบ vascular เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งทำให้ต้นมะเขือเทศเกิดความต้านทาน (Cal et al., 2002) crude pectinase [polygalacturonase] extract (PE) ที่สกัดจาก solid-state fermentation ของ *P. oxalicum* BZ-2002 มาชักนำให้แตงกวาด้านทานต่อโรค scab ที่เกิดจากเชื้อ *Cladosporium cucumerinum* พบว่าการพ่น PE ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 12 – 72 ชั่วโมง สามารถลดการเกิดโรคได้ 62 เปอร์เซ็นต์ (Peng et al., 2004) สารสกัดจาก dry mycelium ของเชื้อ *P. chrysogenum* สามารถชักนำให้ฝ้ายเกิดความต้านทานโรคเหี่ยว ที่เกิดจากเชื้อ *Verticillium dahliae* โดยการพ่นสารลงดิน เพื่อไปกระตุ้นการทำงานของ peroxidase และ lignin (Dong et al., 2003)

6. ส่งเสริมการเจริญเติบโต (plant growth promotor) จุลินทรีย์ต่อต้านมีการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ในด้านเพิ่มการงอก ขนาดและน้ำหนักของต้น รากและผลผลิต เชื้อ *Ch. globosum* เจริญอยู่ที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดของข้าวโพดหวาน และเมื่อนำเชื้อดังกล่าวมา

ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคไหม้ของข้าวโพดหวานในระยะต้นกล้า พบว่าเชื้อ *Ch. globosum* สามารถควบคุมการงอกของเมล็ดข้าวโพดหวานได้ และมีผลต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทั้งระบบราก น้ำหนักลำต้นในสภาพสดและแห้ง (Kommedahl and Chang, 1968) *Ch. globosum* ควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โดยวิธีการใช้เชื้อคลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก ทำให้การงอกเป็นยอดอ่อนเพิ่มขึ้น น้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้น ความสูงเพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการที่ไม่ใช้เชื้อรา *Ch. globosum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก (Soytong and Quimio, 1989) การคลุกเมล็ดข้าวสายพันธุ์ IR 442-2-58 ด้วย สปอร์แขวนลอย หรือสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. และปลูกในดินที่ผสมเชื้อก่อโรค *P. oryzae* มีผลต่อการควบคุมการติดเชื้อในระยะต้นกล้าได้ การคลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ต่อต้าน ยังมีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้า ทั้งในด้านความสูงของต้นและการเจริญเติบโตของระบบราก และน้ำหนักสดของลำต้น (Soytong, 1992a) หรือฉีดพ่น spore suspension 4×10^5 spore/มิลลิลิตร และ culture filtrate ของเชื้อรา *Ch. globosum* ต่อการเพิ่มน้ำหนักต้นและความยาวราก (Soytong, 1992c) เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ในรูปชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* (*Ch. cupreum* CC+*Ch. globosum* CG.) สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เมื่อ โดยมีผลต่อการลดระดับการเกิดโรคและลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินในสภาพแปลงปลูก นอกจากนี้การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ยังมีแนวโน้มที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของส้มโชกุนทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม ได้ดีกว่า (วิเชียร ดีทอง, 2543) สามารถเพิ่มความยาวรากและน้ำหนักต้นของมะเขือเทศ (Soytong, et al., 1999b) และใช้ควบคุมเชื้อ *R. solani* ในแปลงปลูกมันฝรั่ง สามารถเพิ่มผลผลิตของมันฝรั่ง (Shternshis, et al., 2004)

เชื้อรา *T. harzianum* TS2 ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium* (*Cartivium*) *rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *P. spinosum* และ *Fusarium oxysporum* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. rolfsii*, *R. solani* และ *P. aphanidermatum* ได้เท่ากับ 46.50, 28.40 และ 81.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การใช้สปอร์แขวนลอยของ *T. harzianum* TS2 ในการเพาะเมล็ดแตง สามารถส่งเสริมการงอกเมล็ดแตงเท่ากับ 14 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากปลูกเชื้อรา *S. solani* เมื่อเปรียบเทียบกับ control (Xu et al., 1993) ภาวให้ *T. harzianum* และ *T. koningii* สามารถควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne arearia* ของไต้ในสภาพเรือนทดลอง และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอดและราก (Windham et al., 1989) และส่งเสริมการงอกของรากและเจริญเติบโตของรากกิ่งชำเบญจมาศ (Mackezie et al., 1995) ยังสามารถควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* และสามารถส่งเสริมทางด้านการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ และผลผลิตต่อต้น

(Bourbos *et al.*, 1997) *T.harzianum* สามารถควบคุมเชื้อ *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครากเน่าของพริกชี้หนู ส่งเสริมการงอกและส่งเสริมน้ำหนักของต้น, ราก และ ใบ และช่วยเพิ่มจำนวนดอก (Cruz and Cistemg, 1998) *T. harzianum* สามารถลดการเกิดโรค damping off (*Pythium aphanidematum*) ของมะเขือเทศได้ และสามารถเพิ่มความยาวของราก ลำต้น และผลผลิตของมะเขือเทศได้ (Manoranjitham *et al.*, 2001) *T. harzianum* ด้วยวิธีการ seed treatment เพื่อป้องกันต้นกล้าข้าวโพดจากการเข้าทำลายของ *Pythium ultimum* พบว่า *T. harzianum* ส่งเสริมขนาดและเพิ่มจำนวนของขน เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใช้ *T. harzianum* (Harman *et al.*, 2001) สารสกัด Trichotoxin 9 จาก *T. harzianum* สามารถเพิ่มความยาวรากและน้ำหนักต้นของถั่วเขียว คენหาว กวางตุ้ง (Konokmedhakul *et al.*, 2004) ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ด *Trichoderma* (*T. harzianum* PC01+*T. hamatum* PC02) สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เมื่อ โดยมีผลต่อการลดระดับการเกิดโรคและลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินในสภาพแปลงปลูก นอกจากนี้การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ยังมีแนวโน้มที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของส้มโชกุนทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม (วิเชียร ดีทอง , 2543)

การใช้เชื้อรา *Penicillium funiculosum* ในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าส้มเขียวหวาน พบว่าการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. funiculosum* ปริมาณ $4 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ spore/ml จุ่มรากก่อนทำการปลูกอย่างเดียว ช่วยส่งเสริมการเจริญของยอดใหม่ได้มากกว่า และมีส่วนในการเพิ่มจำนวนรากอ่อน โดยมีจำนวนรากอ่อนเฉลี่ยเท่ากับ 27.3 ราก เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่ใช้ *P. funiculosum*) มีจำนวนรากอ่อนเฉลี่ยเท่ากับ 20.3 ราก (Fang and Tsao, 1995) ผสมดินด้วย spore suspension ของ *P. notatum* สามารถเพิ่มความยาวและน้ำหนักของราก และลำต้นหัวไชเท้า กะหล่ำปลี และแตงกวา (Phowiwat and Soyong, 2001)

อย่างไรก็ตาม จากการค้นคว้าวิจัยพบว่าจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonists) ที่สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชประสบผลสำเร็จแล้วในสภาพไร่ ซึ่งมีการวิจัยและจดลิขสิทธิ์ (สิทธิบัตร) เป็นตัวแรกของประเทศไทย คือจุลินทรีย์คีโตเมียมที่ผลิตในลักษณะชีวผลิตภัณฑ์ ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชได้หลายชนิด รวมถึงจุลินทรีย์ต่อต้านอื่นๆ ที่มีการศึกษาวิจัยในประเทศไทย ดังแสดงในตารางที่ 2.4 การศึกษาวิจัยทางด้านนี้ในต่างประเทศ เริ่มมีมาก่อนประเทศไทย โดยมีการวิจัยทำจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonists) ต่างๆ มาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชเช่นเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.4 การวิจัยจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าว	ป้องกันการเข้าทำลายระดับต้นกล้า	ใช้สปอร์ของเชื้อรา <i>Ch.cupreum</i> และสารสกัดจากเชื้อรา <i>Ch.cupreum</i> คลุกเมล็ดข้าว	เกษม สร้อยทอง (2532 ข)
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	ข้าวโพดหวาน	ลดการเกิดโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวาน	ใช้สปอร์ของเชื้อรา <i>Ch.cupreum</i> และสารสกัดจากเชื้อรา	เกษม สร้อยทอง (2532 ค)
<i>Chaetomium cochliodes</i> และ <i>Ch. cuniculosum</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าว	ควบคุมโรคไหม้ที่เกิดขึ้นในระยะต้นกล้า	การใส่รา <i>Ch. cochliodes</i> และ <i>Ch. cuniculosum</i> คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก	เกษม สร้อยทอง (2533)
<i>Chaetomium gracile</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ	ใช้สปอร์แขวนลอยและสารสกัดจากเชื้อรา <i>Ch. gracile</i> ฉีดพ่นลงดินรอบโคนต้น	เกษม สร้อยทอง (2534 ก)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	ข้าวโพดหวาน	ยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Curvularia lunata</i>	<i>Ch.cupreum</i> ที่ตายราดโคนต้น	เกษม สร้อยทอง (2534 ข)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	มะเขือเทศ	สามารถยับยั้งการสร้างเม็ด sclerotium ของเชื้อรา <i>S. rolfsii</i> ได้	ใช้สารสกัดจากเชื้อรา <i>Ch. cupreum</i> และสปอร์ของเชื้อรา <i>Ch. cupreum</i> ที่ตายราดโคนต้น	เกษม สร้อยทอง (2534 ค)
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	มะเขือเทศ พันธุ์สีดา	ควบคุมโรคเหี่ยว	ใช้ยาเพื่อผสมปุ๋ยหมัก	เกษม สร้อยทอง (2535 ก)
<i>Chaetomium trilaterale</i> , <i>C.glabosum</i> และ <i>C.cochliodes</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าว	สร้างสารปฏิชีวนะที่มากควบคุมการเจริญของเชื้อโรค	คลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ต่อต้าน	เกษม สร้อยทอง (2535 ข)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	ข้าว	ลดการเกิดโรคได้	ใช้สปอร์แขวนลอยของจุลินทรีย์ต่อต้าน คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก	เกษม สร้อยทอง (2536 ก)
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรคได้	ฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยของ <i>C. cupreum</i> , สารสกัดของ <i>C. cupreum</i> ทุก 20 วัน	เกษม สร้อยทอง (2536 ข)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Pythium ultimum</i>	มะเขือเทศ	ลดการตายหรือการเกิดโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้ามะเขือเทศ	ใช้สารสกัด (crude extract) และยาเชื้อชนิดเม็ด (biopellets) ที่เกิดจาก <i>Ch. cupreum</i>	เกษม สร้อยทอง และ ชลฎา สถิตวัฒน์ โนนัย (2536)
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	-	มีประสิทธิภาพในการควบคุม <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ของชีวผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเม็ดกลม	เกษม สร้อยทอง และ กอบบุญ สร้อยทอง (2538)
<i>Chaetomium spp.</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์	ลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดิน	ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium spp.</i> ชนิดเม็ดในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อต้น	สุมิตรา น้อยเอี่ยม (2540)
<i>Chaetomium (CC+CG)</i>	<i>Phytophthora parasitica</i>	ส้มเขียวหวาน	สามารถลดการเกิดโรค	ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดของ <i>Chaetomium (CC+CG)</i> ในอัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับยาเชื้อ 2.5 กรัมต่อต้น	พรพรรณ อุสุวรรณ และ เกษม สร้อยทอง (2541)
<i>Chaetomium spp., Trichoderma spp. และ Penicillium spp.</i>	<i>Phytophthora parasitica</i>	มะนาว	ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า	ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทีดีโตเมียม ชิว ผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มา และชีวผลิตภัณฑ์เพนิซิลเลียม	วานรภัศร มีพึง และ เกษม สร้อยทอง (2545)

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ (สคต) กระทรวงพาณิชย์ ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจาก สคต

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium</i> spp.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ตาลฟ้า หงส์ เหนิน ตาลกึ่ง ปลิดิไค้ และ หางกระรอก	ควบคุมโรคแอนแทรคโนส	ใช้ชีวผลิตภัณฑ์โคโคโคไมล์ 20 กรัม ต่อต้นร่วมกับสารชีวภัณฑ์สโรสโคโคโคมา จากเชื้อราโคโคโคไมล์และการใช้ปุ๋ย อินทรีย์อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น	ศิริรัตน์ สมารักษ์ และ เกษม สร้อยทอง (2545)
<i>Chaetomium</i> spp.,	<i>Bipolaris incurvata</i>	สละ	ลดการเกิดโรคใบจุด	ใช้ชีวผลิตภัณฑ์โคโคโคไมล์ ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มา และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียม เป็นเวลา 12 เดือน	สุภัทรา จิตรเกษม สุข และ เกษม สร้อยทอง (2545)
<i>Chaetomium trilaterale</i> , Ch. <i>globosum</i> และ Ch. <i>cochiloides</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าวสาลีพันธุ์ IR 442-2-58	เจริญแข่งขันและกัน และเกิด กิจกรรมของการสร้างสารปฏิชีวนะ	คลุกเมล็ดด้วยสปอร์แขวนลอย หรือสารสกัดจากเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp.	Soytong, (1992a)

2

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	มะเขือเทศ	ควบคุมโรคเหี่ยว	ใช้ spore suspension 4×10^5 spore/ มิลลิลิตร และ culture extract 10,000 ppm. ของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> ฟ่นลงดินในปริมาณ 50 มิลลิลิตร	Soytong (1992b)
<i>Chaetomium cupreum</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าวพันธุ์ IR 422-2-58	ลดการเกิดโรค blast	ใช้ spore suspension 4×10^5 spore/ มิลลิลิตร และ culture filtrate ของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> ฉีดพ่นลงดิน	Soytong (1992c)
<i>Chaetomium cupreum</i> CC1 และ CC8 และ <i>Ch. globosum</i> CG3 และ CG6	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	มะเขือเทศ	ควบคุมโรคเหี่ยว	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium</i> ชนิดเม็ด ในอัตรา 3 กรัมต่อต้น	Soytong (1993)
<i>Chaetomium cupreum</i> CC4 และ <i>Ch. globosum</i> CG2	<i>Sclerotium rolfsii</i>	ข้าวโพด	ลดการเกิดโรค	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium</i> ชนิดเม็ด ในอัตรา 3 กรัมต่อต้น	Soytong (1993)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium</i> spp.	<i>Phytophthora palmivora</i>	ทุเรียนพันธุ์ชะนี	สามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium</i> ในอัตรา 40 กรัมต่อต้น	Pechprom and Soyong (1997)
<i>Chaetomium</i> spp.	<i>Phytophthora palmivora</i>	ทุเรียน	ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน	ใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium</i> ชนิดเม็ดในอัตรา 40 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และปรับสภาพดินด้วยปูนขาว	Soyong and Soyong (1997)
<i>Chaetomium cupreum</i> CC7 และ <i>Ch. globosum</i> CG10	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	มะม่วงโชดอนันต์	ควบคุมโรคแอนแทรคโนส	ใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium</i> (CC7-CG10) ชนิดเม็ดอัตรา 20 กรัมต่อต้น โรยรอบโคนต้นร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น ทุก 4 เดือนและ การฉีดพ่นด้วยสปอร์ของเชื้อ <i>Ch. globosum</i> CG12 และ <i>Ch. cupreum</i> CC7 ในปริมาณ 22×10^{10} spore / ml ทุกเดือน	Noiaium and Soyong (1999)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium cupreum</i> CC1-10 และ <i>Ch. globosum</i> CG 1-12	<i>Phytophthora</i> และ <i>Fusarium</i>	ทุเรียน ส้ม พริกไทย สตรอเบอร์รี่ และ ข้าวโพด	ลดการเกิดโรค	การใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC01-CC10 และ <i>Chaetomium globosum</i> CG01-CG12 ร่วมกับวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน การใช้ปุ๋ยอินทรีย์	Soytong (2000)
<i>Chaetomium cupreum</i> และ <i>Ch. globosum</i>	<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	ปาล์ม	สามารถลดการเกิดโรคได้	การใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium</i> spp. โรยรอบโคนต้นในอัตรา 20 กรัมต่อต้นและฉีดพ่นสารสกัดจากเชื้อรา <i>Ch. cupreum</i> และ <i>Ch. globosum</i> บนแผลที่เกิดอาการเน่า ร่วมกับวิธีการผสมผสาน	Soytong et al. (2000)
<i>Chaetomium cupreum</i> CC1-10 และ <i>Ch. globosum</i> CG 1-12	<i>Phytophthora</i> และ <i>Fusarium</i>	ทุเรียน ส้ม พริกไทย สตรอเบอร์รี่ มะเขือเทศ และ ข้าวโพด	ลดการเกิดโรค	การใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC01-CC10 และ <i>Chaetomium globosum</i> CG01-CG12 ร่วมกับวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน การใช้ปุ๋ยอินทรีย์	Soytong et al. (2001)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

Chaetomium cupreum CC และ Ch. globosum CG	Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici	มะเขือเทศ	ควบคุมโรคเหี่ยว	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ Ketomium ชนิดเม็ดและชนิดผง แล้วบ่มดินไว้ 7 วันก่อนปลูก	Thanh, et al. (2004)
Chaetomium cupreum CC และ Ch. globosum CG	Phytophthora parasitica	ส้ม	ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ Ketomium 20 กรัม/ต้น แล้วฉีดพ่นลงดิน	Thanh, et al. (2004)
Chaetomium cupreum CC และ Ch. globosum CG	Phytophthora infestans	มันฝรั่ง	ควบคุมโรค late blight	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ Ketomium 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 10 วัน	Thanh, et al. (2004)
Chaetomium cupreum CC และ Ch. globosum CG	Phytophthora parasitica	ส้ม	ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า	การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ Ketomium 20 กรัม/ต้น แล้วฉีดพ่นลงดิน	ชวาลา บุรณศิริ (2527)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Phytophthora parasitica</i>	ทุเรียน	ลดปริมาณเชื้อก่อโรค	ผสมของผงเชื้อ ผงไดอะตอมไมท์ รำข้าว และปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1:8:5:16	สุภาพร อรุณ และคณะ (2537)
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Phytophthora parasitica</i>	ส้มเขียวหวาน	ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า	หว่านผงเชื้อรา <i>T. harzianum</i> กับ ส่วนผสมของรำข้าว ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:4:10 หว่านรอบทรงพุ่ม ในอัตราส่วน 100 กรัมต่อตารางเมตร	สุรรัตน์ สิมะเต็ และคณะ (2540)
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Phytophthora parasitica</i>	ส้มโชกุน	ลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ในระดับ ความลึก 6 และ 12 นิ้ว	ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ TRICHODERMA ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น	วิเชียร ดีทอง และคณะ (2543)
<i>T. harzianum</i> PC01 และ <i>T. hamatum</i> PC02	<i>Phytophthora palmivora</i>	ทุเรียน	ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>P. palmivora</i>	ใช้ยาเชื้อ <i>Trichoderma</i> ชนิดเม็ดอัตรา 10 กรัมต่อต้น	Pechprom and Soyong (1997)
<i>T. harzianum</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	มะม่วงพันธุ์ โชคอนันต์	ลดการเกิดโรค และลดปริมาณเชื้อก่อโรค	ใช้ยาเชื้อ <i>T. harzianum</i> ชนิดเม็ดอัตรา 20 กรัมต่อต้น โรยรอบโคนต้นร่วมกับ การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น ทุก 4 เดือนและ การฉีดพ่นด้วยสไปร์ของเชื้อ <i>T. harzianum</i>	Noiaium and Soyong (1999)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

<i>T. harzianum</i> PC01 และ <i>T. hamatum</i> PC02	<i>Phytophthora parasitica</i>	พริกไทย	ลดการเกิดโรค และลดปริมาณเชื้อก่อโรค	ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> (PC01+PC02) ชนิดเม็ด อัตรา 20 กรัม ต่อต้น	Sodsa-art and Soyong (1999)
<i>T. harzianum</i> PC01 และ <i>T. hamatum</i> PC02	<i>Phytophthora parasitica</i>	ส้มเขียวหวาน	ลดการเกิดโรค	ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> (PC01 + PC02) ร่วมกับใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ทุก 4 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน	Ussuan et al. (1999)
<i>Penicillium</i> sp. (P-10)	<i>Phytophthora parasitica</i>	ส้มเขียวหวาน	ควบคุมโรคจากเน่าของ ส้มเขียวหวาน	ใช้ผงเชื้อ	องอาจ และคณะ (2534)
<i>Penicillium</i> sp.	<i>Bipolaris incurvata</i>	สละ	ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา สาเหตุโรค	ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Penicillium</i> spp.	สุภัทรา จิตรเกษมสุข และ เกษม สร้อยทอง (2545)

ตารางที่ 2.5 การวิจัยจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชในต่างประเทศ

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Fusarium roseum</i>	ข้าวโพด	ควบคุมโรค seedling blight และส่งเสริมการเจริญเติบโต	คลุกเมล็ดด้วยสารแขวนลอยของส่วนขยายพันธุ์และสารสกัดจาก <i>C. globosum</i>	Chang and Kommedahl (1968)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	ถั่ว	ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp.	คลุกเมล็ดด้วยสปอร์สดของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i>	Hubbard et al. (1982)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Venturia inaequalis</i>	แอปเปิล	ควบคุมโรคแอปเปิลสแคป	สปอร์สดของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> บนใบพืช	Heye and Andrews (1983)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Pythium ultimum</i> , <i>Phoma betal</i> และ <i>Rhizoctonia solani</i>	ผักกาดหวาน	สามารถป้องกันเชื้อรา	ให้สปอร์สดจากเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> นำมาคลุกกับเมล็ดผักกาดหวาน	Gordon et al. (1987)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Trichoderma roseum</i> และ <i>Fusarium moniliforme</i>	ฝ้าย	ป้องกันโรคติดเชื้อทางเมล็ด	ใช้สปอร์แขวนลอยเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> มาคลุมเมล็ดฝ้าย	Sohi et al. (1988)
<i>Chaetomium globosum</i> <i>Ch. cochliodes</i> <i>Ch. trilaterale</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าวพันธุ์ IR 422-2-58	ลดการเกิดโรค blast	ใช้สปอร์และ culture filtrate ของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> คลุมเมล็ดพันธุ์	Soytong (1988)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Pyricularia oryzae</i>	ข้าวพันธุ์ IR 422-2-58	ลดการเกิดโรค blast	ใช้ spore suspension 4×10^5 spore/มิลลิลิตร และ culture extract ของเชื้อรา <i>Ch. globosum</i> คลุมเมล็ดพันธุ์	Soytong and Quimio (1989)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

Chaetomium globosum	Botrytis cinerea	ลิลี	สามารถยับยั้งการฟักร้างสปอร์ของเชื้อ Botrytis cinerea และสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี และสร้างสารปฏิชีวนะที่มีศักยภาพต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้	ฉีดพ่นด้วย spore suspension	Kohl et al. (1995)
Chaetomium cupreum และ Ch. globosum	Phytophthora palmivola, P. parasitica และ Colletotrichum gloeosporioides	พริกไทย ส้ม	สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช	ฉีดพ่นด้วย spore suspension	Soytong (1995)
Chaetomium globosum, T. harzianum, T. viride และ G. virens	Colletotrichum falcatum	อ้อย	ชักนำให้เกิดความต้านทาน	เมื่อนำมาปลูกเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง -ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค	Anil et al. (2001)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Alternaria triticumaculans</i>	ข้าวสาลี	ประสิทธิภาพดีในการต่อต้านเชื้อ	ทำการพ่น <i>Chaetomium globosum</i> บน	Perello et al. (2001)
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Drechsler corokiniana</i>	ข้าวสาลี	ชักนำให้เกิดความต้านทานโรค spot blotch	โดย treat spores และ crude extract ของเชื้อ <i>Ch. globosum</i> บนต้นกล้าต้นข้าวสาลี	Biswas et al. (2002)
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	ถั่ว	สามารถลดจำนวน sclerotia ของเชื้อรา <i>S. sclerotiorum</i>	ใส่เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ปริมาณ 1×10^4 ถึง 2×10^4 เม็ดต่อตารางเมตร ในดินปลูก	Knudsen and Eschen (1991)
<i>Trichoderma isolate TW055</i>	<i>Phytophthora cactorum</i>	แอปเปิล	สามารถเพิ่มระยะเวลาการอยู่รอดของต้นกล้าแอปเปิล	ให้ conidia suspension ของเชื้อรา ใน aqueous gel เคลือบรากต้นกล้าหรือใช้ spore suspension ผสมผง peat	Roiger and Jeffers (1991)
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Pythiumaphanid ermatum</i>	แตง	ยับยั้งการเกิดโรค	คลุกเมล็ดด้วยสปอร์แขวนลอยของ <i>T. harzianum</i>	Xu et al. (1993)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เชื้อสาเหตุโรค	พืช	กลไกการควบคุม	วิธีการใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Botryotinia fuckeliana</i>	องุ่นพันธุ์ Muller และ Thurgau	ควบคุมโรค blue mould	การใช้เชื้อรา ในรูปผลิตภัณฑ์ TXM	Kyselakova and Nemcova (1997)
<i>Trichoderma harzianum</i> strain 1295-22	<i>Pythium</i> spp.	creeping bentgrass	การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่า	ใช้เม็ดยาเชื้อ และ จีดพ่น conidial suspension	Lo et al. (1997)
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	มะเขือเทศ	ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้	คลุกเมล็ดก่อนปลูก	Lakin and Fravel (1998)
<i>Trichoderma virens</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	ถั่วลิสง	ลดการเกิดโรค charcoal rot	คลุกเมล็ดด้วย conidial suspension ของเชื้อรา	Maheshwari (2001)
<i>Trichoderma virens</i>	<i>Alternaria tenuissima</i>	ถั่วเขียว	ลดการเกิดโรคใบไหม้	จีดพ่นด้วยเชื้อชนิดผงอัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	Lal and Upadhyay (2002)
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Fusarium udum</i>	ถั่วเขียว	สามารถจำนวนประชากรในดินของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว	พ่น culture filtrate บริเวณดินในดินต้น	Chaudhary and Prajapati (2004)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

Penicillium oxalicum	Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรค	ใช้สารสกัดจากเชื้อ	Cal et al. (1995)
Penicillium funiculosus	Phytophthora cinnamomi, P. parasitica และ P. citrophthora	ของอะซาเลีย และ ส้มเขียวหวาน	ยับยั้งการเจริญ	พบว่าการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา <i>P. funiculosus</i> ปริมาณ 4×10^6 - 5×10^6 spore/ml จุ่มราก	Fang and Tsao (1995)
Penicillium oxalicum	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรคเหี่ยวได้	ใช้ conidial suspension ของเชื้อรา ที่ ความเข้มข้น 10^7 conidia/ml	De Cal et al. (2000)
Penicillium oxalicum	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรคเหี่ยว	นำยาเชื้อ มาฉีดพ่นบนต้นมะเขือเทศ หลังจากทำการเพาะได้ 14 วัน	Larena et al. (2001)
Penicillium funiculosus P. pinophilum	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	มะเขือเทศ	ลดการเกิดโรคเหี่ยว	คลุกเมล็ดด้วย conidial suspension ของเชื้อรา	Dhedhi et al. (2001)

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

Penicillium chrysogenum	Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum (Fov)	ต้นเห็ด	ในการชักนำต้นเห็ด ด้านทานต่อเชื้อ	ใช้ Dry mycelium (DM) และ water extract(DME)Penicillium chrysogenum ของ ในการชักนำต้น เห็ดเกิดความต้านทานต่อเชื้อ	Dong and Cohen (2002)
----------------------------	---	---------	--------------------------------------	--	--------------------------

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่า ของส้มโอ

ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากส่วนของใบที่แสดงอาการโรคโดยวิธี Tissue transplant โดยนำชิ้นส่วนที่จะแยกเชื้อตัดเนื้อเยื่อบริเวณขอบแผลเพื่อให้ได้ทั้งส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคขนาดประมาณ 2×2 ตารางมิลลิเมตร นำชิ้นส่วนมาฆ่าเชื้อที่ผิวนอก (surface disinfectant) โดยการแช่ใน clorox 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 – 3 นาที จากนั้นใช้เข็มเย็บหรือปากคีบที่สะอาดลงไฟฆ่าเชื้อแล้วรอให้เย็น คีบชิ้นส่วนของพืชไปวางบนอาหาร WA (water agar) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 4 ชิ้น แต่ละชิ้นห่างกันพอสมควรนำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (28 – 30 องศาเซลเซียส) เมื่อเชื้อราเริ่มเจริญด้วยการสร้างเส้นใยออกมาจากเนื้อเยื่อพืชบนอาหาร WA จึงย้ายเชื้อโดยใช้เข็มเย็บที่สะอาดลงไฟฆ่าเชื้อและรอให้เย็นแล้วตัดอาหารบริเวณปลายของกลุ่มเส้นใยเป็นชิ้นเล็กๆ และนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ย้ายเชื้อจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บไว้ใช้โดยการย้ายเชื้อลงใน agar slant ต่อไป

ทำการเก็บตัวอย่างโรคจากต้นส้มโอที่แสดงอาการโรค โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชที่มีอาการรากเน่าโคนเน่า จากสวนส้มโอที่ทำการทดลอง นำมายังห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อสาเหตุของโรคดังนี้ ทำการแยกโดยวิธี baiting หรือการใช้เหยื่อล่อ ทำโดยเก็บดินบริเวณโคนต้นส้มโอที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่ามีความลึกประมาณ 5 – 10 เซนติเมตรจากระดับผิวน้ำดิน น้ำดิน 20 กรัมใส่ในจานอาหาร (petri dish) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 80 ซีซี (อัตราส่วนดิน : น้ำ เท่ากับ 1: 4) คนให้ดินละลายเข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้ดินนอนก้น ตัดใบส้มให้มีขนาดประมาณ 3×3 มิลลิเมตร ใบส้มที่ใช้ต้องไม่แก่หรืออ่อนเกินไป และต้องเป็นใบที่ไม่เคยได้รับการฉีดยาป้องกันกำจัดเชื้อรามาก่อนนำมาลอยบนผิวน้ำ 10 ชิ้นต่อจานอาหาร บ่มไว้ 3 วัน นำใบส้มโอไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบเส้นใย *Pythium* sp. ใช้เข็มเย็บเชื้อ เชียเส้นใยของ *Pythium* sp. แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จากนั้นนำไปวางบนอาหาร WA (water agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 – 30 องศาเซลเซียส) เมื่อเชื้อราเริ่มเจริญด้วยการสร้างเส้นใยบนอาหาร WA จึงย้ายเชื้อโดยใช้เข็มเย็บที่สะอาดลงไฟฆ่าเชื้อและรอให้เย็นแล้วตัดอาหารบริเวณปลายของกลุ่มเส้นใยเป็นชิ้นเล็กๆ และนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ย้ายเชื้อจนได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บไว้ใช้โดยการย้ายเชื้อลงใน agar slant ต่อไป

โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ของ *Colletotrichum* spp. และ *Pythium* sp. ทุก isolates ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ ลักษณะโคโลนี ลักษณะเส้นใย การเกิด fruiting structures ภายใตกล้องจุลทรรศน์ พร้อมจดบันทึกรายละเอียดของเชื้อ และถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใตกล้องจุลทรรศน์ จากการทดลองนำทุก isolates ที่แยกได้มาศึกษาเปรียบเทียบ และนำไปทดสอบหา isolates ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดเพื่อนำไปศึกษาต่อไป

3.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (Pathogenicity test)

3.2.1 ความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. กับใบส้มโอโดยวิธีการ detached leaf

การทดสอบกับใบส้มโอพันธุ์ทองดี ทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยนำเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ทุก isolates ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 4 และ 2 วัน ตามลำดับ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเชื้อพร้อมชิ้นวัสดุอาหารบริเวณขอบโคโลนีไปปลูกเชื้อลงบนใบส้มโอที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดใบละ 2 แผล จำนวน 4 ใบ (ซ้ำ) การทดลองเปรียบเทียบ (control) ใช้อาหาร PDA บริสุทธิ์ ปฏิบัติเช่นเดียวกัน นำใบส้มโอไปเก็บไว้ในสภาพ moist chamber ตรวจผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อโดยสังเกตอาการผิดปกติบนแผลที่พบเวลาที่วันวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลที่ทำการปลูกเชื้อเปรียบเทียบกับ control เพื่อคัดเลือก isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด เพื่อที่จะนำไปศึกษาวิจัยต่อไป

3.2.2 ความสามารถของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนต้นส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว โดยทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ทำการพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามวิธี Koch's postulates โดยนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทุก isolates นำมาทำ conidia suspension ที่ระดับ 1×10^6 conidia/ml (Shepherd, 1995) โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 15 วัน ชูดเอาโคโลนีออกมาและบดเพื่อให้สปอร์กระจายตัว เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกรองแยกเอาเส้นใยของเชื้อออกด้วยผ้าขาวบาง ทำการปลูกเชื้อโดยการใส่สปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว ด้วยปริมาณ 50 ml/ต้น หลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 15 วัน ทำการปลูกเชื้ออีกครั้ง โดยการใช้สปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผล

ด้วยเห็ดหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว ด้วยปริมาณ 50 มิลลิลิตร/ต้น เปรียบเทียบกับต้นที่ยังไม่ได้ปลูกเชื้อซึ่งฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออย่างเดียว หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม หลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 15 วัน ทำการปลูกเชื้ออีกครั้ง โดยการใช้สปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเห็ดหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว ด้วยปริมาณ 50 มิลลิลิตร/ต้น หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม ตรวจสอบการเกิดโรคและวัดระดับการเกิดโรคเปรียบเทียบกับ control โดยการแบ่งให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

3.2.3 ความสามารถของเชื้อ *Pythium* sp. ในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Pythium* sp. บนต้นส้มโออายุ 1 ปี ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว โดยทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ทำการพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามวิธี Koch's postulates โดยนำเชื้อรา *Pythium* sp. ทุก isolates เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน นำมาทำ sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang *et al.*, 1992) ทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. โดยนำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ตันละ 20 แผล นำไปแช่ใน sporangial suspension 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ โดยแช่ในน้ำกลั่นอย่างเดียว หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม หลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 15 วัน ทำการปลูกเชื้ออีกครั้ง โดยราด sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร รอบโคนต้นปริมาณ 10 มิลลิลิตร/ต้น โดยการใช้ตรวจสอบการเกิดโรคและวัดระดับการเกิดโรคเปรียบเทียบกับ control โดยการแบ่งให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26 –

50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

3.2.5 ความสามารถในการเกิดโรคร่วม (Pathogenicity Disease Complex)

ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกันของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* spp โดยนำ isolates ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส และ โรครากเน่าโคนเน่า ของส้มโอมากที่สุดจากการทดสอบในข้อ 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 และ 3.2.4 โดยทดสอบกับต้นส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี โดยทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ทำการพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธี Koch's postulates นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อ *Pythium* sp. isolates ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคสูงสุด เลี้ยงบนอาหาร PDA แยกต่างหากจากกัน ที่อายุ 15 วัน ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยการใช้ conidia suspension ที่ระดับ 1×10^6 conidia/มิลลิลิตร (Shepherd, C.H., 1995) *Pythium* sp. เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน นำมาทำ sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang *et al.*, 1992)

วิธีการที่ 1 นำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ต้นละ 20 แผล นำไปแช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง ทำการฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออย่างเดียวยกลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว จากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม

วิธีการที่ 2 ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยการใช้ conidia suspension ฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม

วิธีการที่ 3 ทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. โดยนำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ต้นละ 20 แผล นำไปแช่ใน sporangial suspension 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง

* วิธีการที่ 4 ทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. โดยนำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ต้นละ 20 แผล นำไปแช่ใน sporangial suspension 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง และปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides*

โดยการใช้ conidia suspension จัดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม

ดูแลให้ความชื้น เก็บไว้ในเรือนทดลอง ตรวจสอบการเกิดโรค และวัดระดับการเกิดโรค (Disease Index) เมื่อพบว่าใบหรือต้นที่แสดงอาการเป็นโรคจึงนำมาทำ reisolate เปรียบเทียบ ลักษณะเชื้อต่อไป

3.3 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุม เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

3.3.1 การสกัดสารที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonistic fungi)

การสกัดสารจากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* โดยเลี้ยงเชื้อราแต่ละชนิดในอาหาร PDB (Potato Dextrose Broth) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้น นำเส้นใยเชื้อราแต่ละชนิดมากรองและตากแห้ง ซึ่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง นำเส้นใยแห้ง (mycelium dry mat) มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง blender แล้วแช่ด้วยตัวทำละลาย Ethanol ใน ปริมาตร 1:1 (v/v) แช่ไว้ 5 วัน หลังจากนั้นแยกกากกับสารละลาย นำสารละลายที่ได้ไปกลั่นตัว ทำละลายออกแบบลดความดันโดยใช้เครื่อง rotary vacuum evaporator ส่วนที่ได้จากการกลั่น ตัวทำละลายออกเรียกว่า crude เก็บในภาชนะแล้วชั่งน้ำหนัก crude ที่ได้ เพื่อเก็บไว้ทดสอบต่อไป (สมเดช กนกเมธากุล และคณะ, 2538)

3.3.2 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านเพื่อยับยั้งการ เจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

นำสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* มาผสมกันในอัตราส่วน ที่เท่ากันคือชนิดละ 0.5 กรัม จะได้เป็นสารสกัดรวมหลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบกับเชื้อ ราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 วิธีการ ได้แก่ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 $\mu\text{g/มิลลิลิตร}$ โดยใช้ Dimethylsulfoxid (DMSO) เป็นตัวทำละลาย ทำการผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลง ในอาหาร PDA ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g/มิลลิลิตร}$ ใส่เพียง DMSO ในปริมาณที่เท่ากับ

ความเข้มข้นอื่นๆ นำอาหารที่เตรียมได้ไปหนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อหนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อราสาเหตุโรคพืชไปวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดรวมจากเชื้อราต่อต้าน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 และ 4 วัน ตามลำดับ แล้วจึงนำมาตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี นับสปอร์ของเชื้อรา และคำนวณค่าของการยับยั้งเชื้อรา 50% (ED_{50})

3.3.3 ศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. โดยใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำสารสกัดรวม (crude extract) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ตามข้อ 3.3.2 มาทดสอบกลไกในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 วิธีการ ได้แก่ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ โดยใช้ Dimethylsulfoxid (DMSO) เป็นตัวทำละลาย โดยผสมสารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน conidia suspension ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ความเข้มข้น 1×10^6 conidia/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ sporangia suspension ของเชื้อ *Pythium* sp. ที่ความเข้มข้น 1×10^6 sporangia/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในสไลด์หลุมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ ใส่เพียง DMSO ลงไปเท่านั้นในปริมาณที่เท่ากับ ความเข้มข้นอื่นๆ หลังจากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 องศาเซลเซียส) ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ สปอร์ และเส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ภายใต้วัด กล้องจุลทรรศน์ทุก 24 ชั่วโมง โดยให้ระดับการเปลี่ยนแปลงของสปอร์เชื้อ *C. gloeosporioides* 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสปอร์ ระดับที่ 2 = สปอร์มีสีเข้มและมีการรวมตัวของ cytoplasm หรือมีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = สปอร์มีการรวมตัวของ cytoplasm และผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ย หรือมีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = สปอร์มีผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยจนเกิดการ leak หรือมีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = สปอร์มีผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยจนเกิดการ lysis หรือมีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเปลี่ยนแปลงของ germ tube เชื้อ *C. gloeosporioides* 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ germ tube ระดับที่ 2 = germ tube หยุดการเจริญและมีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = germ tube ผนังของสปอร์เริ่มเปื่อยยุ่ย และมีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = germ tube

ผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ย และมีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = germ tube รูปร่างบิดเบี้ยว ผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยและมีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเปลี่ยนแปลงของ sporangia เชื้อ *Pythium* sp. 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ sporangia ระดับที่ 2 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia และ sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว มีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเปลี่ยนแปลงของ oospore 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ oospore ระดับที่ 2 = ooplast ใน oospore มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น และสลายตัวไปบางส่วน มีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ทำการเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$ และ $P = 0.01$

3.4 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพกระถาง

ทดลองที่ตึกเห็ดรา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร โดยใช้เชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* spp โดยนำ isolates ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส และ โรครากเน่าโคนเน่า ของส้มโอกากที่สุดจากการทดสอบในข้อ 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 และ 3.2.4 ทดลองกับต้นกล้าส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี โดยทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. นำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ตันละ 20 แผล นำไปแช่ใน sporangial suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang et al., 1992) เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถาง และทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยการใส่ conidia suspension ที่ระดับ 1×10^6 conidia/มิลลิลิตร (Shepherd, C.H., 1995) จัดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว

หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม หลังจากนั้น 1 เดือนสังเกตการเกิดโรคและให้ระดับการเกิดโรค (Disease Index) และทำการใช้ชีวผลิตภัณฑ์และสารป้องกันกำจัดเชื้อราตามวิธีการดังนี้ ทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ มี 6 วิธีการ

วิธีการที่ 1 วิธีการเปรียบเทียบ (control) ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ใดๆในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ

วิธีการที่ 2 การใช้สารเคมี metalaxyl อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร รดโคนต้นส้มโอ ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และทำการฉีดพ่น copper oxychloride อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 7 วัน ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสส้มโอ

วิธีการที่ 3 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง

วิธีการที่ 4 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิด

วิธีการที่ 5 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง

วิธีการที่ 6 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง (คีโตเมียม+ไตรโคเดอร์มา+เพนนิซิลเลียม)

วิธีการที่ 3-6 ใช้ยาเชื้อชนิดผงในอัตรา 5 กรัม / ต้น โรยรอบโคนต้นและใช้ฉีดพ่นที่ส่วนทรงพุ่ม และฉีดพ่นลงดินบริเวณโคนต้น โดยใช้อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน และทำการฉีดสารสกัดรวมของเชื้อราอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุก 7 วัน ทุกวิธีการทดลองใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับสภาพดินและ ประเมินระดับการเกิดโรคหลังการทดลองทุก 1 เดือน ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) ของดินให้อยู่ในระดับ 5 – 7 ดูแลรดน้ำและกำจัดวัชพืช

3.5 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพแปลงทดลอง

3.5.1 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอก่อน และหลังการทดลอง

ทำการประเมินการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ก่อนทำการทดลองและระหว่างทำการทดลองทุกเดือน ที่สวนคุณประยูรศรี ขาญณรงค์ ลาดกระบัง กรุงเทพฯ ทำการบันทึกข้อมูลประวัติของส้มโอ เช่น พันธุ์ส้มโอ อายุ พื้นที่ปลูก การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ความเป็นกรด – ด่าง (pH) ของดิน การบันทึกการเป็นโรคโดยให้ระดับคะแนนก่อน และหลังการทดลอง

โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz.&Sacc. โดยการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

โรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. โดยการให้ระดับคะแนนเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

3.5.2 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์ดีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพแปลงทดลอง

ทำการทดลองที่สวนคุณประยูรศรี ชาญณรงค์ 20/1 ม.11 แขวงลำปลาทิว เขต ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ต้นส้มโออายุ 2 ปี โดยทำการทดลอง Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ มี 6 วิธีการ คือ

วิธีการที่ 1 วิธีการเปรียบเทียบ (control) ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ใดๆในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ

วิธีการที่ 2 การใช้สารเคมี metalaxyl อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร รดโคนต้นส้มโอทุก 4 เดือน ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และทำการฉีดพ่น copper oxychloride อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสส้มโอ

วิธีการที่ 3 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง

วิธีการที่ 4 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิด

วิธีการที่ 5 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง

วิธีการที่ 6 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง (คีโตเมียม+ไตรโคเดอร์มา+เพนนิซิลเลียม)

วิธีการที่ 3-6 ใช้ยาเชื้อชนิดผงในอัตรา 5 กรัม / ต้น โรยรอบโคนต้นทุก 4 เดือน ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดผงต้นละ 5 กิโลกรัม และใช้ฉีดพ่นที่ส่วนทรงพุ่มและฉีดพ่นลงดินบริเวณโคนต้นโดยใช้อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร และทำการฉีดสารสกัดรวมของเชื้อราอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุกวิธีการทดลองใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับสภาพดินทุก 4 เดือน และประเมินระดับการเกิดโรคหลังการทดลองทุก 1 เดือน ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินให้อยู่ในระดับ 5 – 7 ดูแลรดน้ำและกำจัดวัชพืช

3.6 สถานที่ทำการศึกษาและทดลอง

- 1.ห้องปฏิบัติการราวิทยา ตึกเห็ดรา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 2.สวนคุณประยูรศรี ชาญณรงค์ 20/1 ม.11 แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

3.7 ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือน กันยายน 2544 สิ้นสุดเดือน กรกฎาคม 2547

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอพันธุ์ทองดี

จากการศึกษาลักษณะอาการของส้มโอพันธุ์ทองดี และแยกเชื้อสาเหตุโรค พบว่าอาการบนใบที่เป็นโรคแอนแทรคโนส ซึ่งสามารถแยกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* จากใบส้มโอที่แสดงอาการแอนแทรคโนส ได้ทั้งหมด 9 isolates คือ CL01, CL02, CL03, CL04, CL05, CL06, CL107, CL08 และ CL09 และส้มโอต้นที่มีอาการรากเน่า สามารถแยกเชื้อ *Pythium* sp. จากดินบริเวณรากต้นส้มโอที่แสดงอาการโรครากเน่าโคนเน่า ได้ทั้งหมด 5 isolates คือ PP01, PP02, PP03, PP04, และ PP05

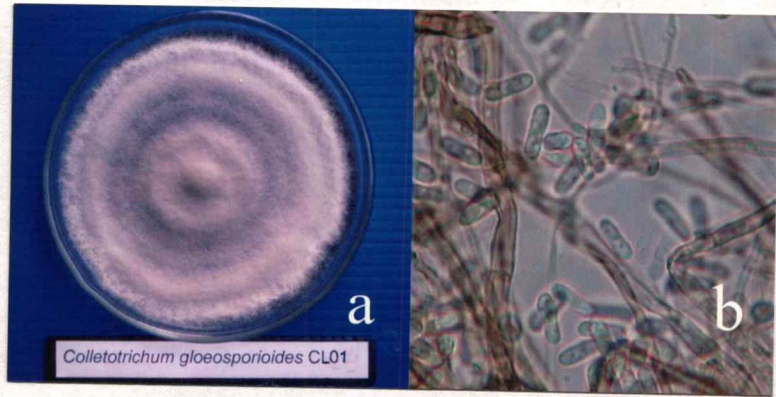
การจัดจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) อันประกอบด้วยการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต สีของโคโลนี รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งทำการศึกษาเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 9 isolates และเชื้อ *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates พบว่าเชื้อราแต่ละ isolates มีความแตกต่างกันในด้านการเจริญเติบโต สีของโคโลนี รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ดังแสดงรายละเอียดใน ตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.1 ถึงภาพที่ 4.5 อย่างไรก็ตามการพบเชื้อรา *Pythium* sp. เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอพันธุ์ทองดี เป็นรายงานการค้นพบครั้งแรกในประเทศไทย

ตารางที่ 4.1 ลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates ต่างๆ

Isolates	รายละเอียดของเชื้อรา (Description)
CL01	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีเทาอ่อน สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย ไม่มีการสร้าง conidial masses สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.16 - 2.40 \times 8.40 - 13.20$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae
CL02	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีขาว สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย ไม่มีการสร้าง conidial masses สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.40 - 4 \times 9.60 - 14.40$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae
CL03	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีน้ำตาลอ่อน สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีการสร้าง conidial masses สีส้ม ที่อายุ 12 วัน สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.64 - 4.56 \times 9.84 - 13.20$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae
CL04	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีน้ำตาล สร้างเส้นใยราบเรียบ มีการสร้าง conidial masses สีส้ม ที่อายุ 8 วัน สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.16 - 3.36 \times 9.36 - 12.48$ ไมครอน พบการสร้าง Setae และ Sclerotia แต่ไม่มีการสร้าง Chlamydospore
CL05	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีน้ำตาลอ่อน สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีการสร้าง conidial masses สีส้ม ที่อายุ 13 วัน สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.64 - 4.36 \times 9.36 - 14.88$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae
CL06	ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีขาว สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย ไม่มีการสร้าง conidial masses สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $2.88 - 5.28 \times 9.12 - 14.64$ ไมครอน พบการสร้าง Chlamydospore แต่ไม่มีการสร้าง Sclerotia และ Setae

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

Isolates	รายละเอียดของเชื้อรา (Description)
CL07	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีเทาดำ สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีการสร้าง conidial masses สีดำ ที่อายุ 11 วัน สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว ขนาดประมาณ $2.16 - 2.40 - 14.40 \times 8.40 - 13.20$ ไมครอน พบการสร้าง Setae แต่ไม่มีการสร้าง Chlamydospore และ Sclerotia
CL08	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีเทาดำ สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย มีการสร้าง conidial masses สีส้ม ที่อายุ 12 วัน สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว ขนาดประมาณ $2.40 - 4 \times 9.60 - 14.40$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae
CL09	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 8 วัน มีสีขาว สร้างเส้นใยฟูเล็กน้อย ไม่มีการสร้าง conidial masses สร้าง conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว ขนาดประมาณ $2.40 - 3.12 \times 9.36 - 12.48$ ไมครอน ไม่พบการสร้าง Chlamydospore , Sclerotia และ Setae



Isolate CL01



Isolate CL02

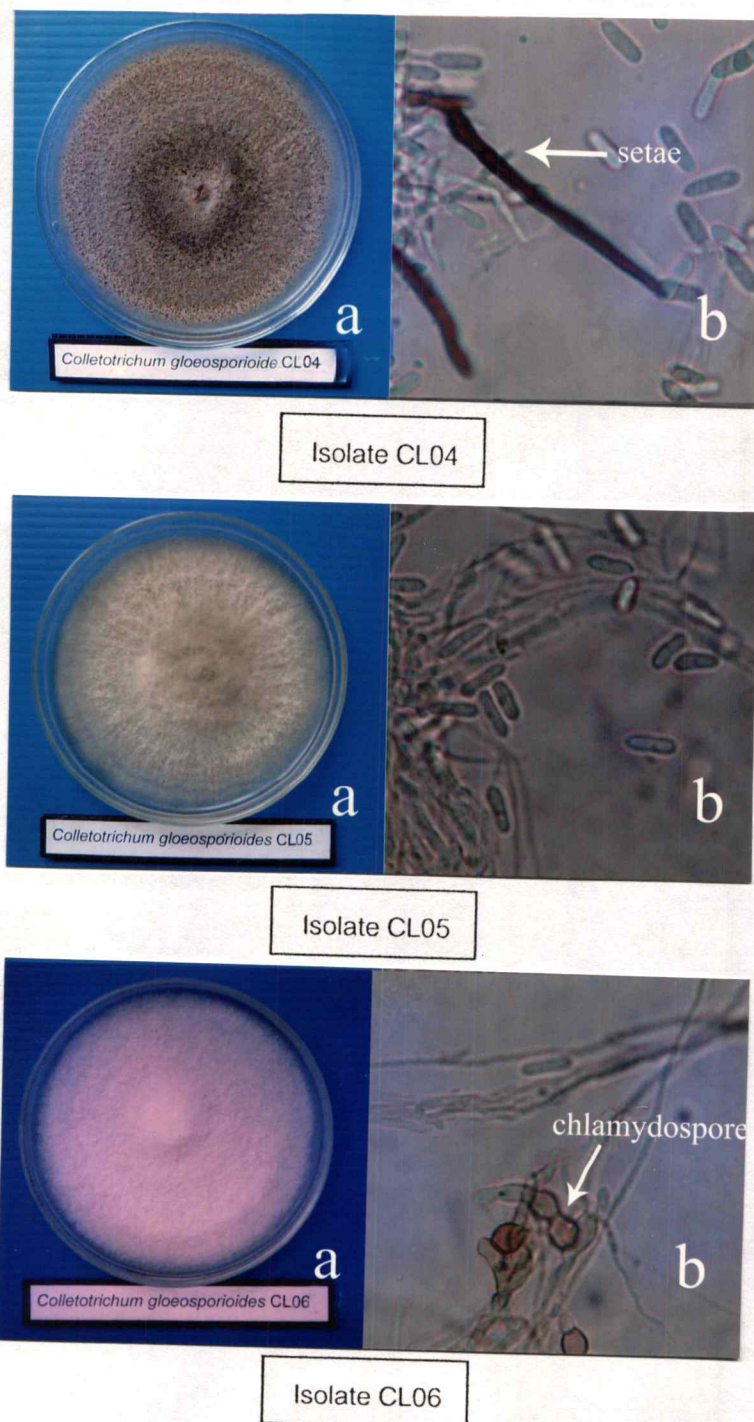


Isolate CL03

ภาพที่ 4.1 ลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates CL01 CL02 และ CL03 อายุ 8 วัน

- ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA
- ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates CL04 CL05 และ CL06 อายุ 8 วัน

a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA

b. ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า

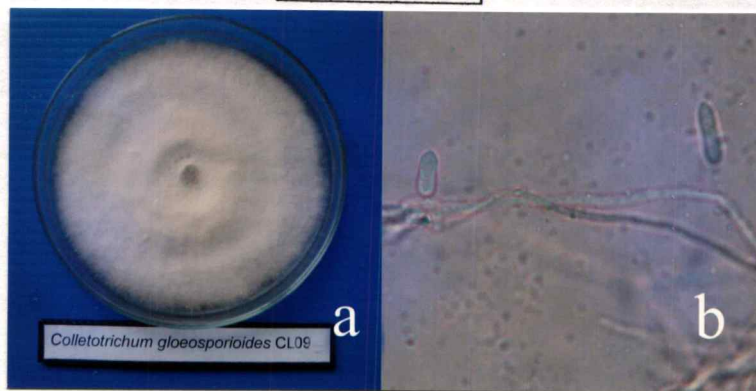
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Isolate CL07



Isolate CL08



Isolate CL09

ภาพที่ 4.3 ลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates CL07 CL08 และ CL09 อายุ 8 วัน

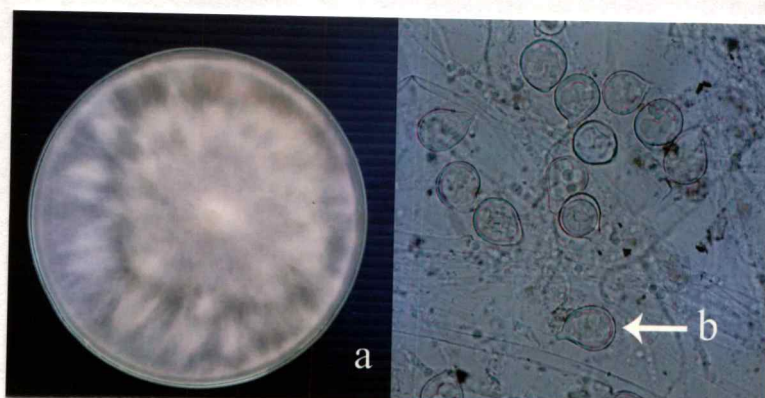
- ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA
- ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

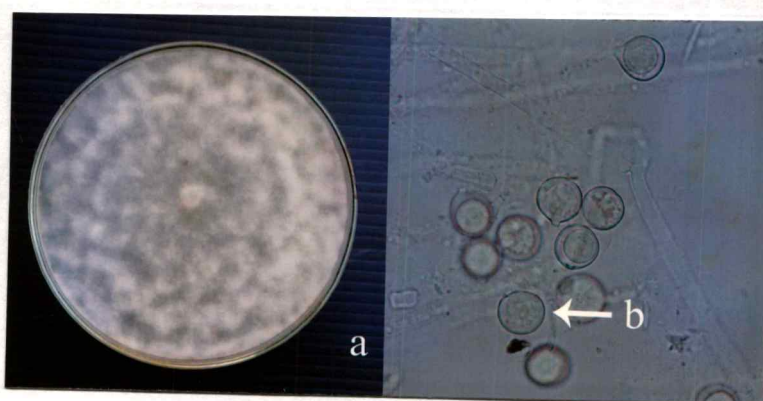
ตารางที่ 4.2 ลักษณะเชื้อรา *Pythium* sp. Isolates ต่างๆ

Isolates	รายละเอียดของเชื้อรา (Description)
PP01	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 4 วัน มีสีขาว เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลมมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 27.5×29.5 ไมครอน sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ $31 - 33.5 \times 35.5 - 45$ ไมครอน
PP02	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 6 วัน มีสีขาว เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลมมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 27.5×30 ไมครอน sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ $25.5 - 33.5 \times 32.5 - 37.5$ ไมครอน
PP03	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 6 วัน มีสีขาว เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลมมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 26×29 ไมครอน sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ $27 - 35 \times 32 - 39$ ไมครอน
PP04	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 6 วัน มีสีขาว เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลมมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 28×30 ไมครอน sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ $25 - 32.5 \times 27.5 - 32.5$ ไมครอน
PP05	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อายุ 4 วัน มีสีขาว เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลมมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 28.5×30 ไมครอน sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ $27.5 - 37.5 \times 35.5 - 42.5$ ไมครอน

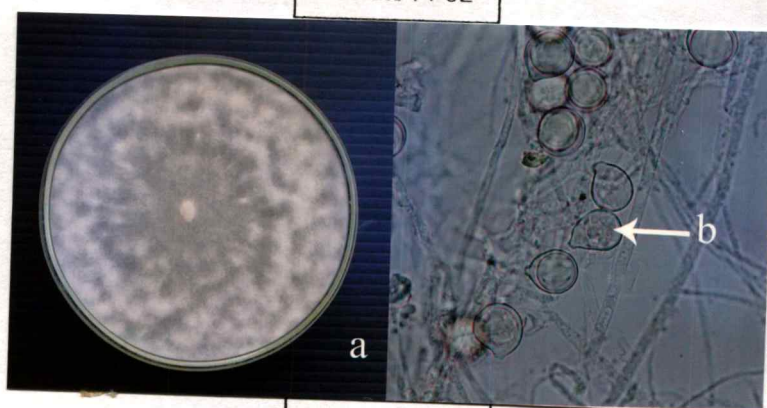
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Isolate PP01



Isolate PP02

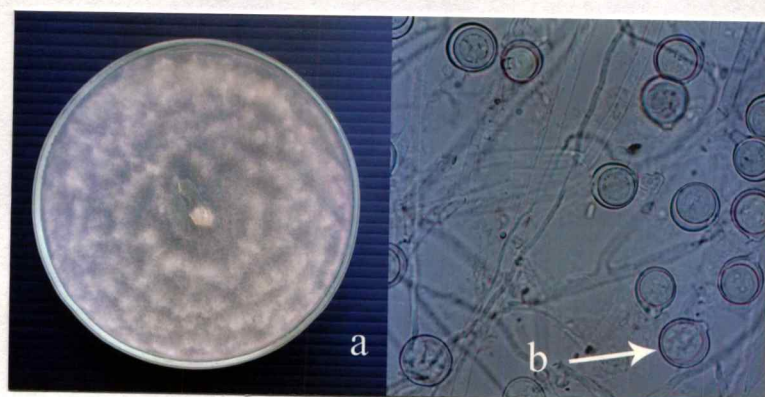


Isolate PP03

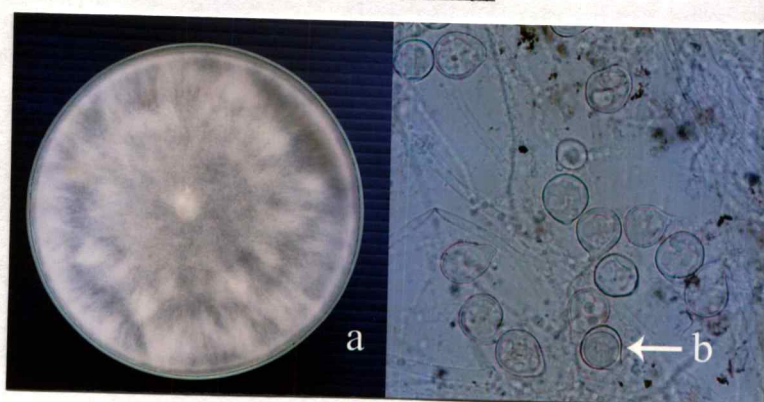
ภาพที่ 4.4 ลักษณะเชื้อรา *Pythium* sp. Isolates PP01 PP02 และ PP03 อายุ 4 และ 6 วัน

- a. ลักษณะโคโลนิบนอาหาร PDA
- b. ลักษณะ sporangia ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Isolate PP04



Isolate PP05

ภาพที่ 4.5 ลักษณะเชื้อรา *Pythium* sp. Isolates PP04 และ PP05 อายุ 6 และ 4 วัน

- a. ลักษณะโคโลนิบนอาหาร PDA
- b. ลักษณะ sporangia ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (Pathogenicity test)

4.2.1 ความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. กับใบส้มโอโดยวิธีการ detached leaf

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคแอนแทรคโนสของเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* รวมทั้งหมด 9 isolates ได้แก่ CL01, CL02, CL03, CL04, CL05, CL06, CL07, CL08 และ CL09 บนใบส้มโอที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุด และบ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27 – 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน ปรากฏว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* ทั้ง 9 isolates ที่แยกได้มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่ง isolate CL09 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบรุนแรงที่สุด โดยแผลมีอาการสีน้ำตาลเข้มและขยายวงกว้างออกไป เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่พบอาการของโรค โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 2.76 เซนติเมตร รองลงมาคือ isolate CL05, CL04, CL03, CL08, CL07, CL06 และ CL01 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเท่ากับ 2.01, 1.83, 1.63, 1.53, 1.43, 1.43, 1.13 และ 0.73 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.6)

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของเชื้อ *Pythium* sp. โดยทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. รวมทั้งหมด 5 isolates ได้แก่ PP01, PP02, PP03, PP04 และ PP05 บนใบส้มโอที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุด และบ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27 – 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน ปรากฏว่าเชื้อราทั้ง 5 isolates ที่แยกได้มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่ง isolate PP04 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบรุนแรงที่สุดโดยแผลบริเวณที่ปลูกเชื้อเป็นสีน้ำตาลเข้ม และเจริญลุกลามอย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่พบอาการของโรค โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 4.08 เซนติเมตร รองลงมาคือ isolate PP05, PP03, PP02 และ PP01 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเท่ากับ 3.83, 3.63, 3.08, 2.90 และ 2.90 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.7) จากการทดลองพบว่าเชื้อสาเหตุดังกล่าวสามารถติดเชื้อและทำให้เกิดโรคบนใบส้มได้

4.2.2 ความสามารถของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว โดยทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* รวมทั้งหมด 9 isolates ได้แก่ CL01, CL02, CL03, CL04, CL05, CL06, CL07, CL08 และ CL09 โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 15 วัน ขูดเอาโคโลนีออกมาและบดเพื่อให้สปอร์กระจายตัว เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกรองแยกเอาเส้นใยของเชื้อออกด้วยผ้าขาวบาง ทำการปลูกเชื้อโดยใช้สปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว ด้วยปริมาณ 50 มิลลิลิตร/ต้น หลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 15 วัน ทำการปลูกเชื้ออีกครั้ง โดยการใช้สปอร์แขวนลอยฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ทั่ว ด้วยปริมาณ 50 มิลลิลิตร/ต้น หลังจากการทดลอง 1 เดือน พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่ง isolate CL03 มีระดับการเกิดแอนแทรคโนสโรครุนแรงที่สุดโดยแผลมีอาการสีน้ำตาลเข้ม และขยายวงกว้างออกไป ต่อมาจะเข้าทำลายกิ่งจนมีอาการแห้งตาย เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่พบอาการของโรค โดยมีระดับการเกิดแอนแทรคโนสโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3.20 ส่วนอีก 8 isolates มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.8)

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบและต้นกล้าของส้มโอรุนแรงมากที่สุด ซึ่งคัดเลือก isolate ดังกล่าวใช้ในการทดลองต่อไป

4.2.3 ความสามารถของเชื้อ *Pythium* sp. ในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นกล้าส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว โดยทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. รวมทั้งหมด 5 isolates ได้แก่ PP01, PP02, PP03, PP04 และ PP05 โดยนำเชื้อรา *Pythium* sp. ทุก isolates เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน นำมาทำ sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang et al., 1992) ทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. โดยนำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ตันละ 20 แผล นำไปแช่ใน sporangial suspension 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ โดยแช่ในน้ำกลั่นอย่างเดียว หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุม หลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 15 วัน ทำการปลูกเชื้อ

อีกครั้ง โดยวาด sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร รอบโคนต้น ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/ต้น จากการทดลองพบว่าเชื้อ *Pythium* sp. สามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่ง isolate PP05 มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.40 ลักษณะต้นส้มโอจะโทรมลง ใบซีดเหลืองใบลาย และมีอาการกิ่งแห้งตาย เมื่อล้างทำความสะอาดรากพบว่ารากมีลักษณะเปื่อยเน่าและรากมีอาการถอดปล้องจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับ control ต้นส้มโอจะมีใบเขียวเข้มเป็นมัน และมีรากที่สมบูรณ์แข็งแรง isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงรองลงมาได้แก่ PP01, PP02, PP04 และ PP03 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 2.60, 2.20, 2.20 และ 2.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.9)

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเชื้อ *Pythium* sp. isolate PP05 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบและต้นกล้าของส้มโอรุนแรงมากที่สุด ซึ่งคัดเลือก isolate ดังกล่าวใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 4.3 การทดสอบความสามารถของการเกิดโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าจาก isolates ต่างๆที่แยกได้ บนใบส้มและบนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี

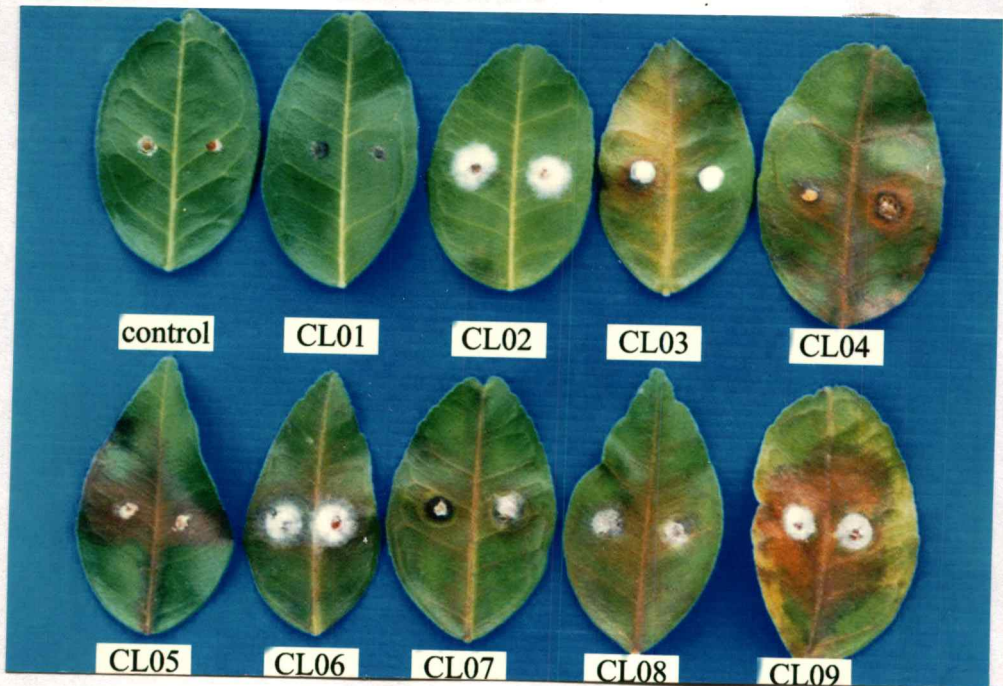
<i>C. gloeosporioides</i>		
isolates	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล (ซม.) บนใบส้มโดยวิธีการ detached leaf	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส บนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี ^{1/}
Control	0.50d ^{2/}	1.00c
CL01	0.73cd	2.00b
CL02	1.13bcd	2.00b
CL03	1.63bc	3.20a
CL04	1.83ab	2.20b
CL05	2.01ab	2.00b
CL06	1.43bcd	2.20b
CL07	1.43bcd	2.00b
CL08	1.53bc	2.40b
CL09	2.76a	2.40b
CV (%)	30.70	15.73
<i>Pythium</i> sp. isolates		
	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล (ซม.) บนใบส้มโดยวิธีการ detached leaf	ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า บนต้นส้มโอพันธุ์ทองดี ^{1/}
Control	0.50d	1.00c
PP01	2.90c	2.60ab
PP02	3.08c	2.20b
PP03	3.63b	2.00b
PP04	4.08a	2.20b
PP05	3.83ab	3.40a
CV (%)	5.96	24.11

^{1/}ระดับคะแนนเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 - 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 - 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกึ่งแห้งตาย 21 - 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 - 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 - 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 - 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

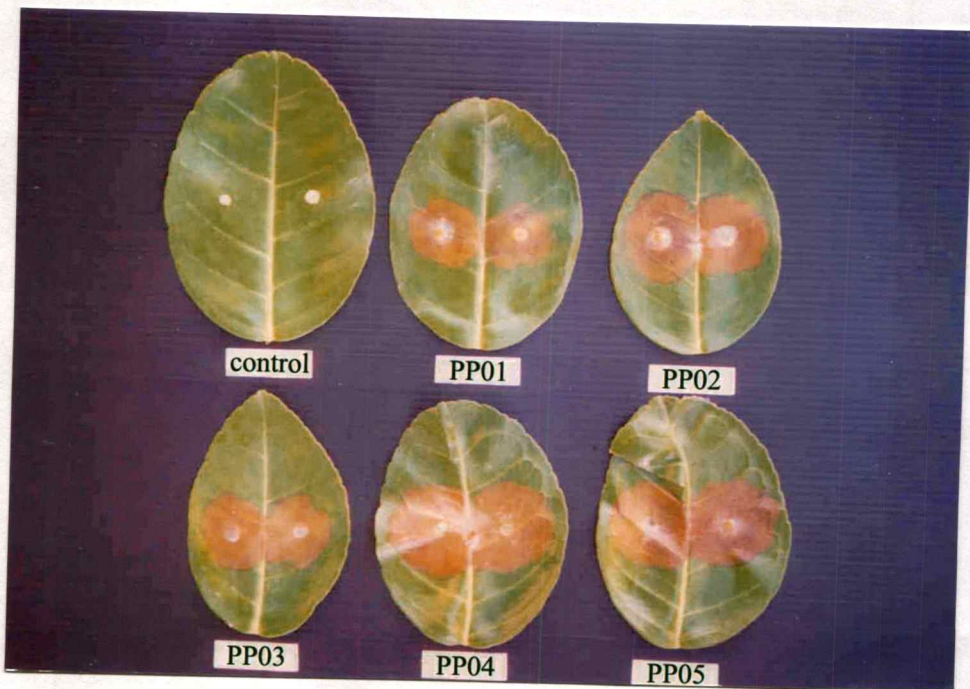
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์ใดคอลัมน์หนึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

^{3/}ระดับคะแนนเกิดโรครากเน่าโคนเน่า (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือรากเน่า 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและตาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือรากเน่า 26 - 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและตาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือรากเน่า 51 - 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและตาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือรากเน่า 75 - 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

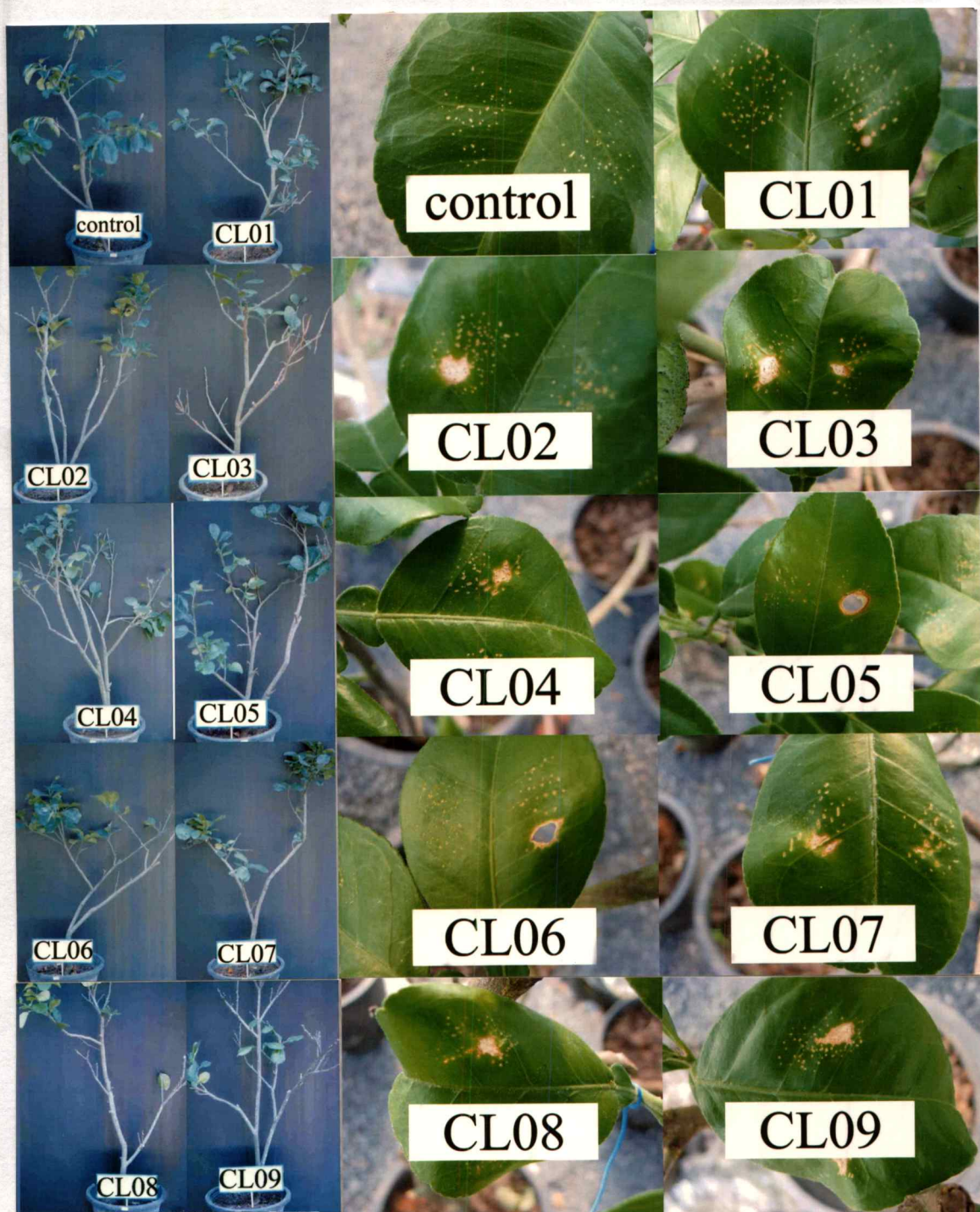


ภาพที่ 4.6 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolates ต่างๆ บนใบส้มโอ หลังการทดลอง 4 วัน



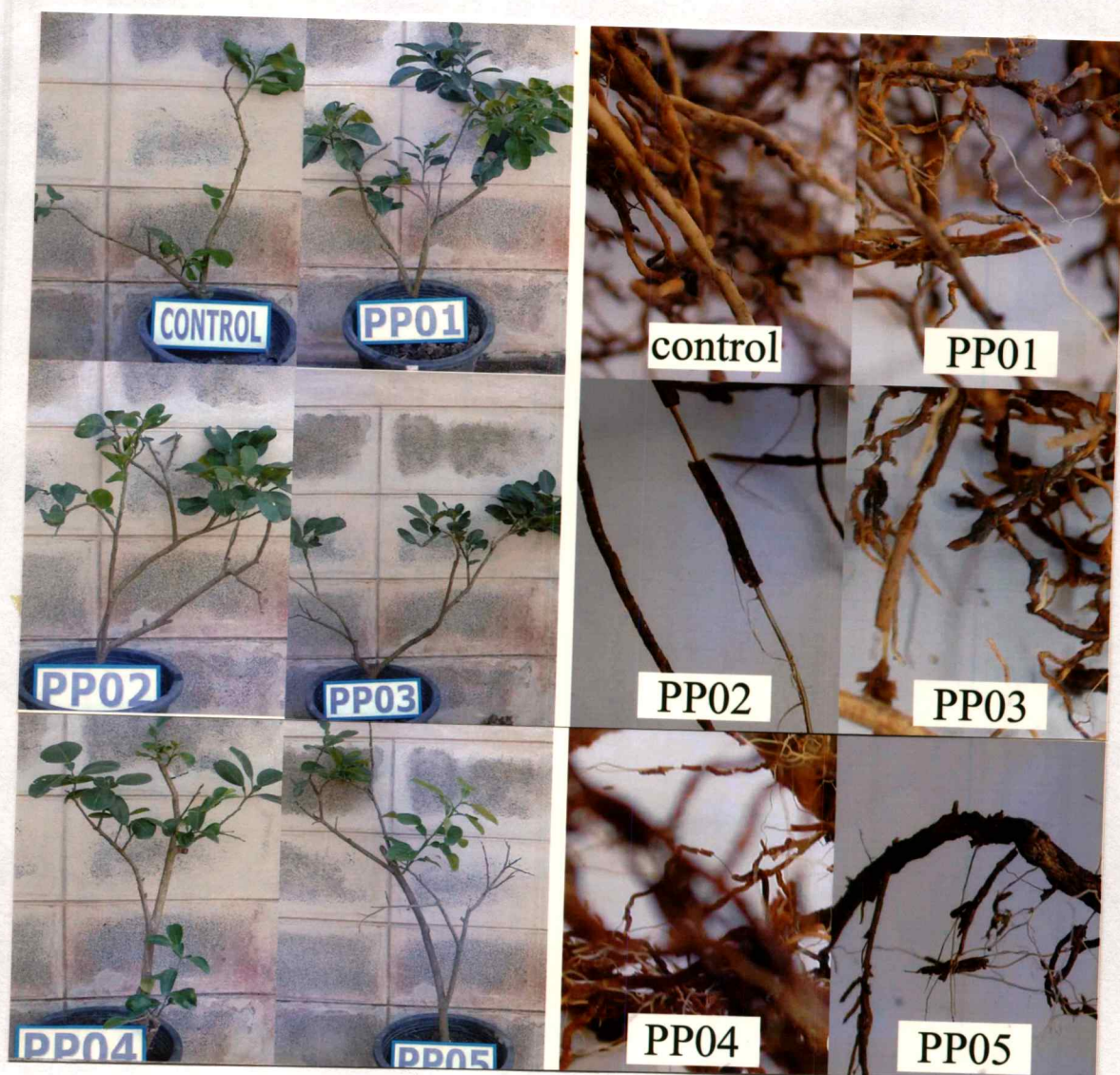
ภาพที่ 4.7 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า ของเชื้อ *Pythium* sp. isolates ต่างๆ บนใบส้มโอ หลังการทดลอง 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา
Colletotrichum gloeosporioides isolates ต่างๆ บนต้นส้มโอ
 หลังการทดลอง 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. บนต้นส้มโออายุ 1 ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ความสามารถในการเกิดโรคร่วม (Pathogenicity Disease Complex)

ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส และ โรครากเน่าโคนมากที่สุดจากการทดสอบในข้อ 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 และ 3.2.4 พบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส และ โรครากเน่าโคนเน่าสูงสุด จึงนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมของส้มโอ โดยทดสอบกับต้นส้มโอพันธุ์ทองดีอายุ 1 ปี นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 และเชื้อ *Pythium* sp. isolates PP05 ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคสูงสุด เลี้ยงบนอาหาร PDA แยกต่างหากจากกัน ที่อายุ 15 วัน ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 โดยการใช้ conidia suspension ที่ระดับ 1×10^6 conidia/มิลลิลิตร (Shepherd, C.H., 1995) *Pythium* sp. PP05 เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน นำมาทำ sporangia suspension ที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang et al., 1992) หลังการทดลอง 45 วัน พบว่า วิธีการที่ 2 การปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 บนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อ มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบเฉลี่ยเท่ากับ 2.20 ซึ่งปรากฏลักษณะอาการพบแผลจุดสีน้ำตาล และขยายวงกว้างออกไป บางครั้งพบกลุ่มสปอร์เจริญรอบเป็นวงแหวน และใบจะร่วงในที่สุด และวิธีการที่ 3 การปลูกเชื้อ *Pythium* sp. PP05 ที่รากของส้มโอ มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.40 หลังจากปลูกเชื้อต้นส้มโอจะมีลักษณะอาการต้นโทรมลง ใบซีดเหลืองใบลาย และรุนแรงจนมีอาการกิ่งแห้งตาย เมื่อล้างทำความสะอาด พบว่ารากมีลักษณะเปื่อยเน่าและรากมีอาการถอดปล้องจำนวนมาก สำหรับวิธีการที่ 4 ปลูกเชื้อทั้ง 2 ชนิด โดยปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 ที่ใบทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อ และการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. PP05 ที่รากในต้นเดียวกันพบว่ามีการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ยเท่ากับ 2.60 มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 และมีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 3.80 โดยต้นส้มโอจะโทรมลงอย่างรวดเร็ว ที่ใบจะมีลักษณะซีดเหลืองใบลายและรุนแรงจนมีอาการกิ่งแห้งตาย มีแผลจุดสีน้ำตาลและขยายวงกว้างออกไปอย่างรวดเร็ว รากมีลักษณะเปื่อยเน่าและรากมีอาการถอดปล้องจำนวนมาก สำหรับวิธีการที่ 1 ไม่มีการเกิดโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่า (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.10)

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมของส้มโอ พบว่าวิธีการที่ 4 ปลูกเชื้อทั้ง 2 ชนิด โดยปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 ที่ใบทำให้เป็นแผลด้วยเข็มหมุดที่ฆ่าเชื้อ และการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. PP05 ที่รากในต้นเดียวกันพบว่ามีการเกิดโรคแอนแทรคโนสสูงกว่าวิธีการที่ 2 การปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 เพียงอย่างเดียว และมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าสูงกว่าวิธีการที่ 3 การปลูกเชื้อ *Pythium* sp. PP05 เพียงอย่างเดียว ซึ่งจะเห็น

ได้ว่าการปลูกเชื้อทั้ง 2 ชนิดบนต้นเดียวกัน ยิ่งทำให้พืชอ่อนแอและเกิดโรคมากกว่าการปลูกเชื้อ *C. gloeosporiodes* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 เพียงเดียว จึงสรุปได้ว่าเชื้อ *C. gloeosporiodes* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 มีความสามารถในการเกิดโรคร่วมต่อส้มโอพันธุ์ทองดีได้ดีที่สุด

ตารางที่ 4.4 ระดับการเกิดโรคร่วมของอาการแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของต้นส้มโออายุ 1 ปี

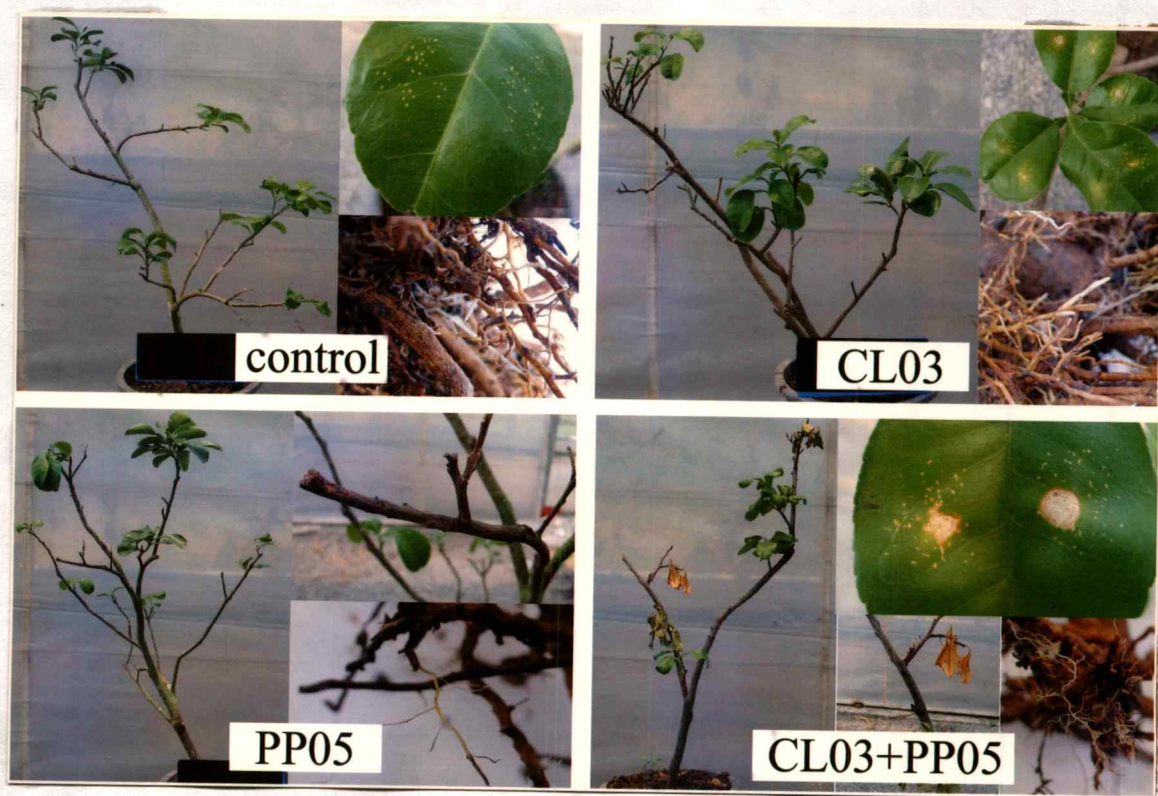
วิธีการ	ระดับการเกิดโรค		
	แอนแทรคโนส ^{1/}	รากเน่าโคนเน่า ^{2/}	โรคร่วม ^{3/}
Control	1.00b ^{4/}	1.00c	-
<i>C. gloeosporiodes</i>	2.20a	1.00c	-
<i>Pythium</i> sp.	1.00b	3.40b	-
<i>C. gloeosporiodes</i> และ <i>Pythium</i> sp.	2.60a	5.00a	3.80
CV (%)	19.36	10.53	-

^{1/} ระดับคะแนนเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll et al., 1993)

^{2/} ระดับคะแนนเกิดโรครากเน่าโคนเน่า (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มโอแดงใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler et al., 1989)

^{3/} ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) = (ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า + ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส)/2

^{4/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test



ภาพที่ 4.10 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วม บนต้นส้มโอ อายุ 1 ปี

control = วิธีการเปรียบเทียบ

CL03 = ปลวกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CL03

PP05 = ปลวกเชื้อ *Pythium* sp. PP05

CL03 + PP05 = ปลวกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 และ *Pythium* sp. PP05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

4.3.1 การสกัดสารที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonistic fungi)

จากการเลี้ยง *Chaetomium cupreum* CC ในอาหาร PDB จำนวน 40 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 2750 กรัม แล้วนำมาผึ่งในแห้ง เป็นเวลา 5 วัน จึงได้น้ำหนักแห้ง 330 กรัม นำไปบดแล้วแช่ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้สกัดตัวทำละลาย ethanol โดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัด crude 5.71 กรัม

จากการเลี้ยง *Ch. globosum* CG ในอาหาร PDB จำนวน 40 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 3100 กรัม แล้วนำมาผึ่งในแห้ง เป็นเวลา 5 วัน จึงได้น้ำหนักแห้ง 353 กรัม นำไปบดแล้วแช่ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้สกัดตัวทำละลาย ethanol โดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัด crude 1.32 กรัม

จากการเลี้ยง *Trichoderma harzianum* PC01 ในอาหาร PDB จำนวน 40 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 1220 กรัม แล้วนำมาผึ่งในแห้ง เป็นเวลา 5 วัน จึงได้น้ำหนักแห้ง 141 กรัม นำไปบดแล้วแช่ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้สกัดตัวทำละลาย ethanol โดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัด crude 2.47 กรัม

จากการเลี้ยง *T. hamatum* PC02 ในอาหาร PDB จำนวน 40 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 1730 กรัม แล้วนำมาผึ่งในแห้ง เป็นเวลา 5 วัน จึงได้น้ำหนักแห้ง 188 กรัม นำไปบดแล้วแช่ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้สกัดตัวทำละลาย ethanol โดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัด crude 4.66 กรัม

จากการเลี้ยง *Penicillium chrysogenum* ในอาหาร PDB จำนวน 40 ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน นำมากรองได้เส้นใยมีน้ำหนักสด 1550 กรัม แล้วนำมาผึ่งในแห้ง เป็นเวลา 5 วัน จึงได้น้ำหนักแห้ง 130 กรัม นำไปบดแล้วแช่ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกกากและสารละลาย นำสารละลายที่ได้สกัดตัวทำละลาย ethanol โดยผ่านเครื่อง rotary vacuum evaporator ได้สารสกัด crude 3.15 กรัม

4.3.2 การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านเพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp.

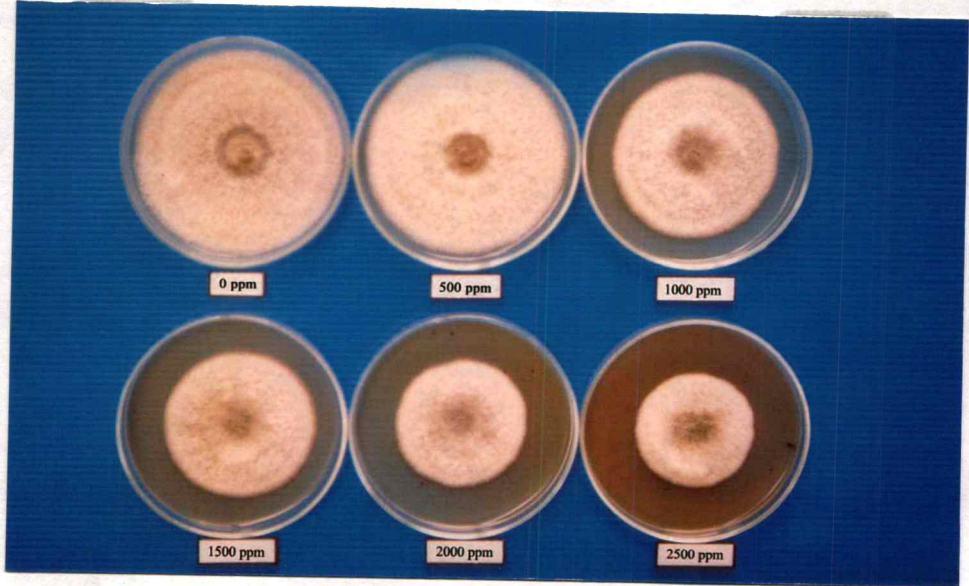
จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดรวมของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC ที่สกัดโดยใช้ ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1000, 1500 และ 2000 µg/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 ได้ที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.63 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 48.56 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 µg/มิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 5.33, 6.00, 6.50 และ 8.10 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 40.08, 33.33, 27.78 และ 10.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0µg/มิลลิลิตร) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.11) เมื่อนำสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มาตรวจนับจำนวนสปอร์ พบว่าสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นมีผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ได้ใช้สารสกัด ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 µg/มิลลิลิตร มีปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เฉลี่ยเท่ากับ 4.26, 3.38, 2.47, 2.47, 1.85 และ 1.64 ($\times 10^6$ spore/มิลลิลิตร) ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0µg/มิลลิลิตร) มีปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เฉลี่ยเท่ากับ 5.64×10^6 spore/มิลลิลิตร การใช้สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง สปอร์เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 70.09 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 µg/มิลลิลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 67.20, 56.21, 40.07 และ 24.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) จากการทดสอบสารสกัดรวมจาก จุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดี โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 2717 และ 1288 ppm. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและ
การสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 ที่อายุ 8 วัน

ระดับความเข้มข้น µg/มิลลิลิตร	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง สปอร์ (x10 ⁶)	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เจริญเติบโต ^{1/}	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ สร้างสปอร์ ^{1/}
0	9.00a ^{2/}	5.64a		
500	8.10b	4.26b	10.00	24.47
1000	6.50c	3.38c	27.78	40.07
1500	6.00d	2.47cd	33.33	56.21
2000	5.33e	1.85d	40.08	67.20
2500	4.63f	1.64d	48.56	70.09
CV (%)	2.74	14.61		
ED ₅₀ (ppm.)	2717	1288		

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = (เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์
ของเชื้อราบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบน Treated plate /
เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อราบน control plate) x 100

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ
ความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test



ภาพที่ 4.11 การทดสอบสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา
Colletotrichum gloeosporioides CL03 ที่อายุ 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

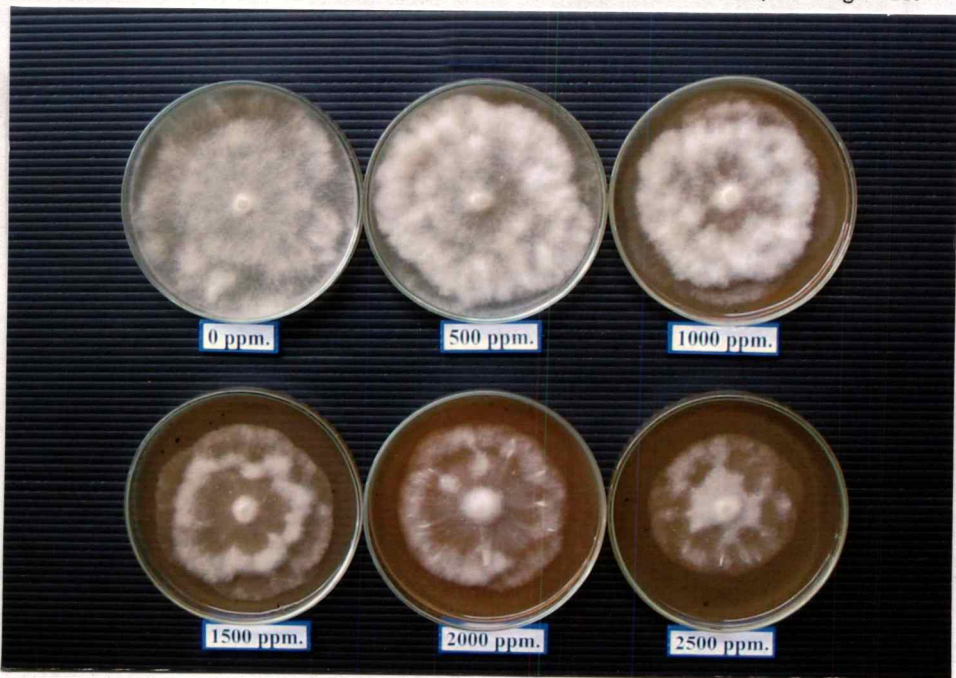
จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Pythium* sp. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดรวมของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC ที่สกัดโดยใช้ ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1000, 1500 และ 2000 µg/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 5.65 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 37.22 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 µg/มิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 6.53, 6.80, 7.60 และ 8.75 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 27.44, 24.44, 15.56 และ 2.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 µg/มิลลิลิตร) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 9.00 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.12) เมื่อนำเชื้อรา *Pythium* sp. มาตรวจนับจำนวน sporangia พบว่าสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นมีผลในการยับยั้งการสร้าง sporangia แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ได้ใช้สารสกัด ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 µg/มิลลิลิตร มีปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อรา *Pythium* sp. เฉลี่ยเท่ากับ 9.97, 9.00, 7.50, 6.00, และ 2.88 ($\times 10^5$ sporangia/มิลลิลิตร) ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 µg/มิลลิลิตร) มีปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อรา *Pythium* sp. เฉลี่ยเท่ากับ 13.13×10^5 sporangia /มิลลิลิตร การใช้สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง sporangia เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 77.07 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 µg/มิลลิลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 54.30, 42.88, 31.45 และ 24.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) จากการทดสอบสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. พบว่าสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Pythium* sp. ได้ดี โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี และการสร้าง sporangia ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 3619 และ 1677 ppm. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต และ การสร้าง sporangia ของเชื้อ *Pythium* sp. PP05 ที่อายุ 4 วัน

ระดับความเข้มข้น µg/มิลลิลิตร	หนาเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangia (x10 ⁵)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้ง การเจริญเติบโต ^{1/}	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการ สร้าง sporangia ^{1/}
0	9.00a ^{2/}	13.13a		
500	8.75a	9.97b	2.78	24.07
1000	7.60b	9.00b	15.56	31.45
1500	6.80c	7.50bc	24.44	42.88
2000	6.53d	6.00c	27.44	54.30
2500	5.65e	2.88d	37.22	78.07
CV (%)	1.76	15.40		
ED ₅₀ (ppm.)	3619	1677		

^{1/} เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = (เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อราบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อราบน control plate) x 100

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test



ภาพที่ 4.12 การทดสอบสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pythium* sp.PP05 ที่อายุ 4 วัน

4.3.3 ศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Pythium* sp. โดยใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการนำ conidia suspension เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ผสม สารสกัดรวมของจุลินทรีย์ต่อต้าน (*Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC) ที่สกัดโดยใช้ ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 µg/มิลลิลิตร พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 2500, 2000, 1500 และ 1000 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.25, 3.00, 3.00 และ 3.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น ผนังของสปอร์เริ่มเปื่อยยุ่ย ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลาย ผนังเซลล์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 จากภายนอก (exolysis) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/มิลลิลิตร โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 2.00 โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเล็กน้อยในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 µg/มิลลิลิตร) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์และผนังของสปอร์เป็นปกติ (ตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.13) และที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.50 โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อนมีสีเข้ม ผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ย และรูปร่างสปอร์จะมีบิดเบี้ยว จนในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) แล้ว cytoplasm ไหลออกมา ซึ่งเกิดจากผลของสารสกัดรวมที่เข้าทำลายผนังเซลล์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 จากภายนอก (exolysis) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพิ่มขึ้นโดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.75, 3.50, 3.25 และ 2.00 ตามลำดับ ขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 µg/มิลลิลิตร) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์และผนังของสปอร์เป็นปกติ (ตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.13) ส่วนลักษณะ germ tube ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 ที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ germ tubes เชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้น 2500 และ 2000 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.25 และ 3.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสี

เข้มข้น ผนังของสปอร์และผนัง germ tubes เริ่มเปื่อยยุ่ย และส่วนของ germ tubes มีการงอกออกมาเพียงเล็กน้อย ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลายผนังเซลล์จากภายนอก (exolysis) และยับยั้งการเจริญของ germ tubes รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$ โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 2.25, 2.25 และ 2.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น ผนังของสปอร์และผนัง germ tubes เริ่มเปื่อยยุ่ยเพียงเล็กน้อย ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยมีการงอกของ germ tubes ซึ่งยาวกว่าความยาวของสปอร์ ไม่พบลักษณะที่ผิดปกติของ germ tubes และสปอร์ (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.14) และที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$ มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อน ผนังของสปอร์และผนัง germ tubes เปื่อยยุ่ย ในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) โดยการงอกของ germ tubes จะไม่มีการเพิ่มขึ้นส่วนของ germ tubes และสปอร์มีลักษณะที่ผิดปกติคือ มีอาการบิดเบี้ยวไปจากปกติ ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวมที่เข้าทำลายผนังเซลล์และยับยั้งการเจริญของ germ tubes ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 จากภายนอก (exolysis) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$ มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพิ่มขึ้นโดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.75, 3.50, 3.00 และ 2.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อน ผนังของสปอร์และผนัง germ tubes เปื่อยยุ่ย ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยสปอร์ปกติและ germ tubes มีการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบที่เวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.14)

สปอร์ และ germ tubes เป็นกลไกสำคัญต่อการเข้าทำลายภายในพืช โดยสปอร์จะงอก germ tubes เพื่อแทงเข้าไปทำลายเซลล์ของพืช จากผลการทดลองสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์และ germ tubes ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 โดยสารสกัดรวมสามารถทำลายสปอร์ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ และทำลาย germ tubes ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ กลไกที่สารสกัดรวมเข้าทำลายสปอร์และ germ tubes เรียกว่า การ lysis โดยสารสกัดรวมสามารถทำให้ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อน เปลี่ยนสี cytoplasm จากสีขาวใสเป็นสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นสารสกัดรวมเริ่มย่อยสลายผนังของสปอร์จนเปื่อยยุ่ย เมื่อสลายผนังแล้ว cytoplasm ภายในสปอร์จะแตกสลาย สปอร์รูปร่างบิดเบี้ยว ในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) จน cytoplasm ไหลออกมาภายนอก ส่วนสปอร์ที่งอก germ tubes ออกมา สารสกัดรวมยังสามารถยับยั้งให้ germ tubes หยุดการเจริญและเข้าทำลายโดยทำให้ cytoplasm

ในสปอร์และ germ tubes จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น จากนั้นสารสกัดรวมเริ่มย่อยสลายผนังของสปอร์และ germ tubes จนเปื่อยยุ่ย เมื่อสลายผนังแล้ว cytoplasm จากนั้น cytoplasm จะเริ่มสลายตัว ผนังของสปอร์และ germ tubes จะเปื่อยยุ่ยจนหมด สปอร์และ germ tubes มีรูปร่างบิดเบี้ยวจากปกติ ผนังสปอร์และ germ tubes เริ่มมีรอยแตก จนในที่สุดสปอร์ก็จะแตก(lysis) cytoplasm ไหลออกมานอกสปอร์ สปอร์และ germ tubes จะสลายตัวในที่สุด เกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลายผนังเซลล์จากภายนอก (exolysis) ซึ่งขบวนการ exolysis เป็นการป้องกันไม่ให้เชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายพืช

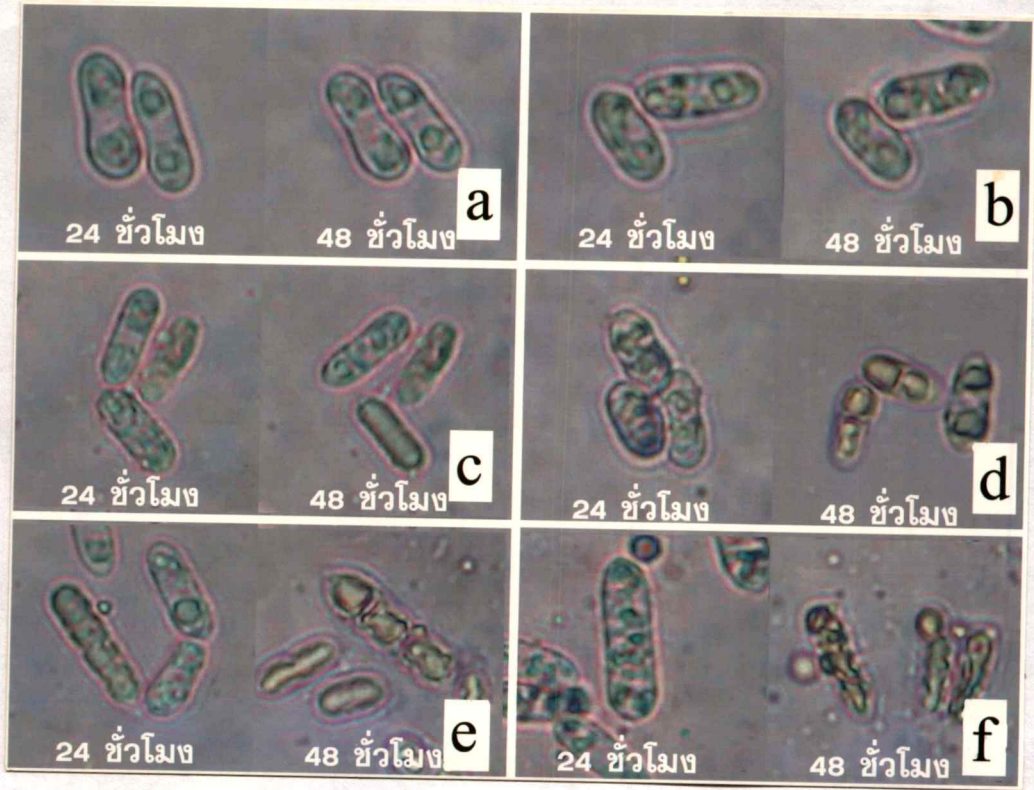
ตารางที่ 4.7 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น µg/มิลลิลิตร	ระดับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ เชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CL03			
	Spore ^{2/}		Germ tubes ^{3/}	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
•0	1.00c ^{1/}	1.00d	1.00c	1.00e
500	2.00b	2.00c	2.00b	2.00d
1000	3.00a	3.25b	2.25b	3.00c
1500	3.00a	3.50b	2.25b	3.50bc
2000	3.00a	3.75b	3.00a	3.75b
2500	3.25a	4.50a	3.25a	5.00a
CV(%)	8.03	11.65	15.08	10.82

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

^{2/} ระดับการเปลี่ยนแปลงของสปอร์ 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสปอร์ ระดับที่ 2 = สปอร์มีสีเข้มและมีการรวมตัวของ cytoplasm หรือมีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = สปอร์มีการรวมตัวของ cytoplasm และผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ย หรือมีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = สปอร์มีผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยจนเกิดการ leak หรือมีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = สปอร์มีผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยจนเกิดการ lysis หรือมีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์

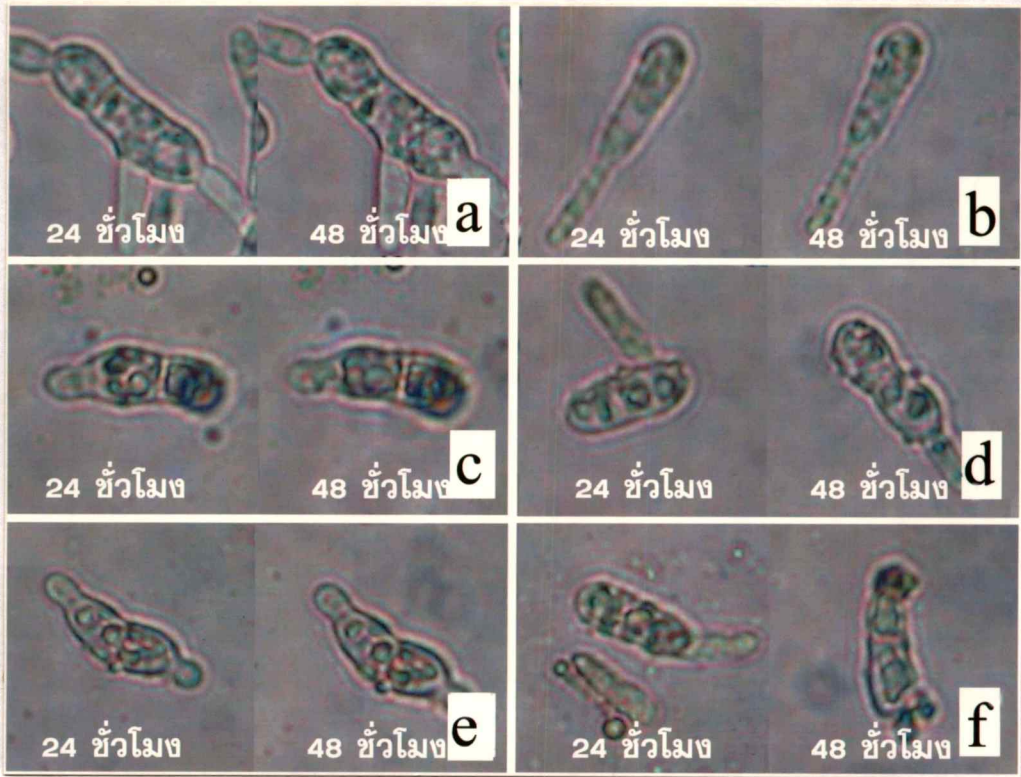
^{3/} ระดับการเปลี่ยนแปลงของ germ tubes 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ germ tubes ระดับที่ 2 = germ tubes หยุดการเจริญและมีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = germ tubes ผนังของสปอร์เริ่มเปื่อยยุ่ย และมีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = germ tubes ผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ย และมีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = germ tubes รูปร่างบิดเบี้ยว ผนังของสปอร์เปื่อยยุ่ยและมีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.13 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์เหี่ยวรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

- ที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 1500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ Germ tubes เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

- ที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 1500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- ที่ระดับความเข้มข้น 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำ suspension เชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ผสมสารสกัดรวมของ จุลินทรีย์ต่อต้าน (*Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC) ที่สกัดโดยใช้ ethanol ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้น 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 โดยลักษณะ zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือมีสีเข้มขึ้น จัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2000, 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.50, 3.00, 3.00 และ 1.75 ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ zoospore ใน sporangia เป็นปกติ(ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.15) และที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 และ 2000 ผลของสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมากที่สุดโดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 และ 4.75 ตามลำดับ โดย zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือมีสีเข้มขึ้น จัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia นอกจากนี้ sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว ต่างไปจากลักษณะเดิม รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.75, 3.00 และ 3.00 ตามลำดับ โดย zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือมีสีเข้มขึ้น จัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ zoospore ใน sporangia เป็นปกติ(ภาพที่ 4.15) ส่วนลักษณะ oospore ของเชื้อ *Pythium* sp. PP05 ที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ oospore เชื้อรา *Pythium* sp. PP05 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้น 2500 และ 2000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 และ 4.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน และมีสีเข้มขึ้น รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 3.50, 3.00 และ 2.75 ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ oospore เป็นปกติ(ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.22) และที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 และ 2000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$ มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยามากที่สุดโดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 และ 4.75 ตามลำดับ โดยลักษณะ ooplast ใน

oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น และสลายตัวไปบางส่วน รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 และ 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$ โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.00, 3.75 และ 3.75 ตามลำดับ โดยลักษณะ ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิกรัม}$) มีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 1 โดยลักษณะ oospore เป็นปกติ(ภาพที่ 4.16)

sporangia และ oospore มีความสำคัญต่อการเข้าทำลายส่วนของรากของพืชคือ zoospore ใน sporangia จะถูกปลดปล่อยออกมาและสร้างเส้นใยแทงเข้าไปทำลายส่วนของรากพืช ส่วน oospore เป็นโครงสร้างที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต เมื่อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม oospore จะเจริญเป็นเส้นใยและสร้าง sporangia เพื่อปลดปล่อย zoospore เข้าไปทำลายส่วนของรากพืช จากผลการทดลองสารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ sporangia และ oospore ของเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 โดยสารสกัดรวมสามารถทำลาย sporangia และ oospore ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค โดยสารสกัดจะทำให้ zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือ มีสีน้ำตาลเข้มและรูปร่างของ zoospore จะบิดเบี้ยว จากนั้น zoospore อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia และปล่อย zoospore เร็วกว่าปกติ โดย sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว ต่างไปจากลักษณะเดิม ผนังของ sporangia ถูกย่อยสลายจนเปื่อยยุ่ย ส่วนลักษณะ oospore ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน สีเปลี่ยนไปคือมีสีน้ำตาลเข้ม ผนังของ oospore ถูกย่อยสลายจนเปื่อยยุ่ย ooplast จะสลายตัว เกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลายผนังเซลล์จากภายนอก (exolysis)

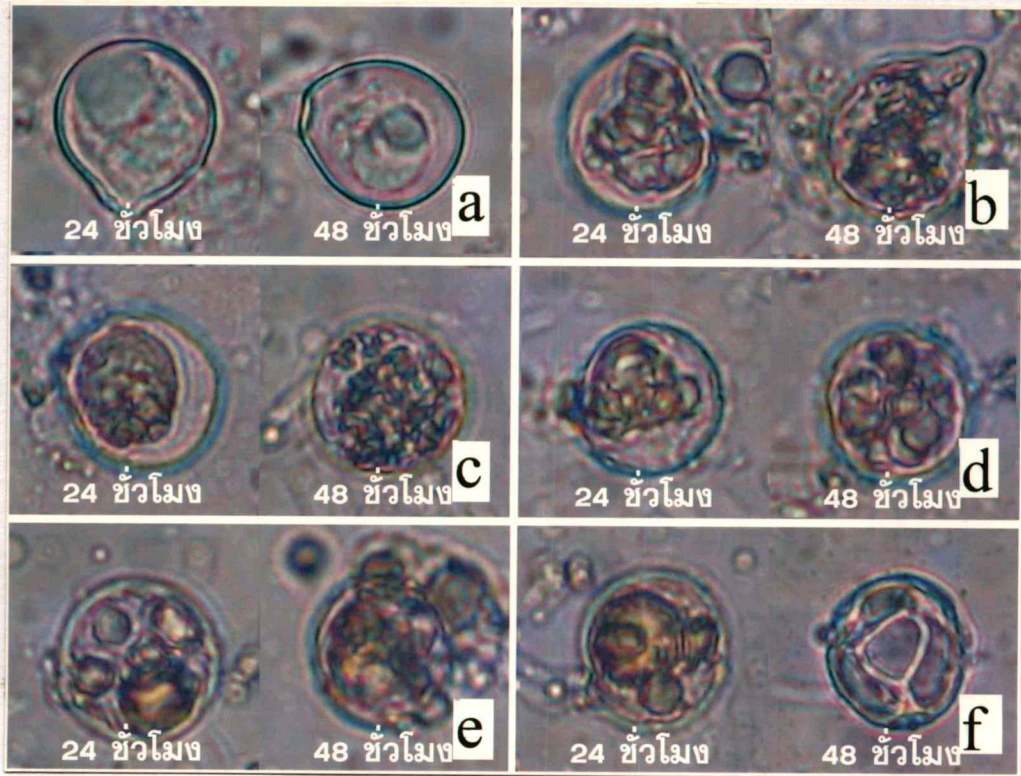
ตารางที่ 4.8 ตารางสรุปรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น µg/มิลลิลิตร	ระดับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ เชื้อรา <i>Pythium</i> sp. PP05			
	Sporangia ^{2/}		Oospore ^{3/}	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0	1.00e ^{1/}	1.00d	1.00d	1.00e
500	1.75de	3.00c	2.75c	3.75b
1000	3.00bc	3.00c	3.00bc	3.75b
1500	3.00bc	3.75b	3.50ab	4.00b
2000	3.50b	4.75a	4.00a	4.75a
2500	4.00a	5.00a	4.00a	5.00a
CV(%)	15.94	8.73	9.65	7.39

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

^{2/} ระดับการเปลี่ยนแปลงของ sporangia 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ sporangia ระดับที่ 2 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia มีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = zoospore มีสีเข้มขึ้น อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia และ sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว มีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์

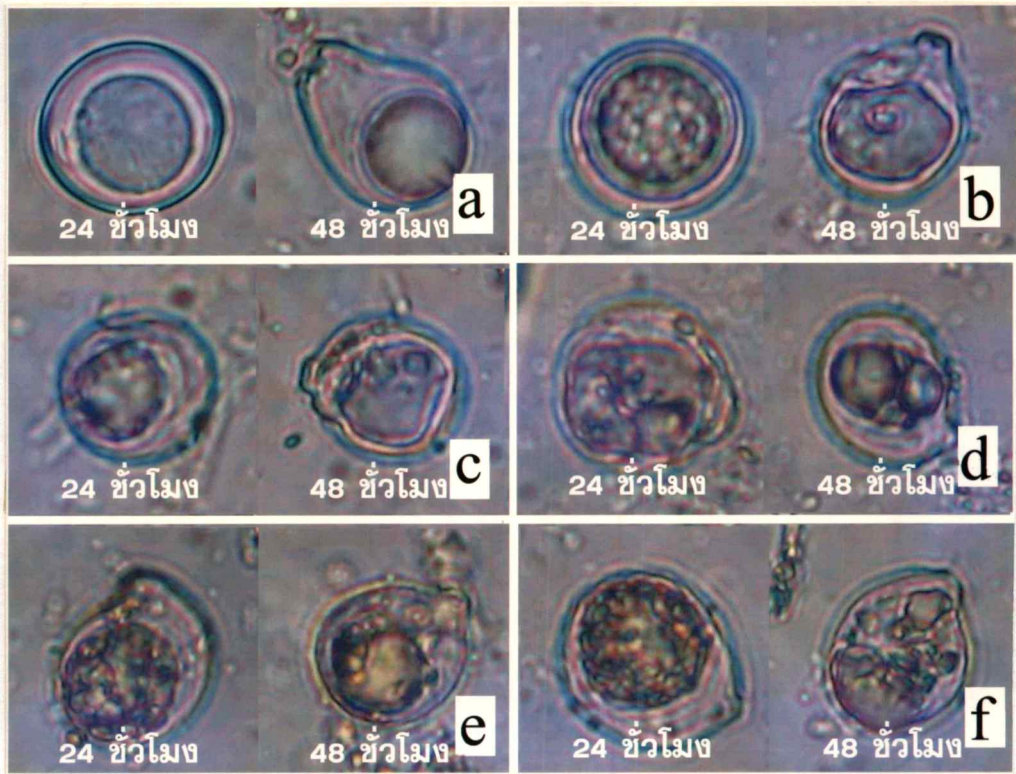
^{3/} ระดับการเปลี่ยนแปลงของ oospore 5 ระดับดังนี้ ระดับที่ 1 = ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ oospore ระดับที่ 2 = ooplast ใน oospore มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น มีการเปลี่ยนแปลง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 = ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน มีสีเข้มขึ้น และสลายตัวไปบางส่วน มีการเปลี่ยนแปลง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.15 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ sporangia เชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

- a. ที่ระดับความเข้มข้น 0 µg/มิลลิลิตร
- b. ที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/มิลลิลิตร
- c. ที่ระดับความเข้มข้น 1000 µg/มิลลิลิตร
- d. ที่ระดับความเข้มข้น 1500 µg/มิลลิลิตร
- e. ที่ระดับความเข้มข้น 2000 µg/มิลลิลิตร
- f. ที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ oospore เชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

- a. ที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- b. ที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- c. ที่ระดับความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- d. ที่ระดับความเข้มข้น 1500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- e. ที่ระดับความเข้มข้น 2000 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$
- f. ที่ระดับความเข้มข้น 2500 $\mu\text{g}/\text{มิลลิลิตร}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพกระถาง

จากการทดลองการควบคุมโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และโรครากเน่าโคนเน่า สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CL103 โดยใช้ spore suspension ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^6 conidia/มิลลิลิตร (Shepherd, C.H., 1995) จัดพ่นลงบนใบส้มโอที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุด และทำการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. โดยใช้ sporangia suspension ที่ระดับความเข้มข้น 2.8×10^6 sporangia/มิลลิลิตร (Yang et al., 1992) ปลูกเชื้อ *Pythium* sp. PP05 โดยนำต้นส้มโอมาล้างรากให้สะอาดและตัดปลายราก 0.5 เซนติเมตร ตันละ 20 ผล นำไปแช่ใน sporangial suspension 5 นาที แล้วนำไปปลูกในดินที่อบฆ่าเชื้อ

ก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.20, 2.00, 2.20, 2.20, 2.00 และ 2.00 ตามลำดับ หลังจากการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride และ ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสคือ ที่ระดับ 1.40, 1.40, 1.60, 1.60 และ 1.80 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 2.00 โดยปรากฏอาการชัดเจนบนใบแก่เป็นแผลไหม้ แผลมีรูปร่างกลมจนถึงรูปร่างไม่แน่นอน สีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลไหม้ กลางแผลมีสีน้ำตาลอ่อนแผลมักแห้งและมีจุดสีดำเล็กๆจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride และ ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 30.00, 30.00, 20.00, 20.00 และ 10.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride ชีวชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง ผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสคือ ที่ระดับ 1.00, 1.00, 1.00, 1.20 และ 1.40 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 1.80 วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride ชีวชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์

ชนิดผง ผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 44.44, 44.44, 44.44, 33.33 และ 22.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสคือ ที่ระดับ 1.00 เท่ากันทุกวิธีการ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 1.40 วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง สารเคมี copper oxychloride ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 28.57 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกวิธีการ (ตารางที่ 4.9 - ตารางที่ 4.10 และ ภาพที่ 4.17- ภาพที่ 4.18)

ก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.60, 2.40, 2.80, 2.40, 2.40 และ 2.60 ตามลำดับ โดยต้นล้มโงจะไม่แตกใบอ่อน และบางครั้งอาจพบอาการใบอ่อนเหี่ยวคล้ายขาดน้ำ ใบเหลืองตรงบริเวณเส้นกลางใบ ใบร่วงกิ่งแห้งตายจากปลาย หลังจากการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.20, 1.80, 2.00, 2.20, 2.20 และ 2.00 ตามลำดับ วิธีการใช้ สารเคมี metalaxyl, ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 18.18, 9.09 และ 9.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เดือน พบว่าทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.20, 1.40, 1.40, 1.60, 1.60 และ 1.40 ตามลำดับ วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง , สารเคมี metalaxyl, ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 36.36, 36.36, 36.36, 27.27 และ 27.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียมชนิดผง , ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง, สารเคมี metalaxyl และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าคือ ที่ระดับ 1.00 , 1.00, 1.00, 1.20 และ 1.40 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมี

ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเท่ากับ 2.80 วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง, สารเคมี metalaxyl และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 64.29, 64.29, 64.29, 57.14 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.11- ภาพที่ 4.17- ภาพที่ 4.18)

จากการประเมินระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) ในสภาพเรือนทดลองจะเห็นได้ว่าหลังจากปลูกเชื้อทั้งสองชนิดร่วมกันในต้นส้มโอต้นเดียวกัน ปรากฏว่า 1 เดือนหลังจากปลูกเชื้อ ก่อนการทดลอง โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกซ์เจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.30, 2.20, 2.50, 2.30, 2.20 และ 2.30 ตามลำดับ หลังจากการทดลอง 1 เดือนพบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง และ สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคร่วมต่ำที่สุด คือ 1.70 รองลงมาคือการใช้ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีระดับการเกิดโรคร่วม 1.90 และ 2.00 ตามลำดับ ซึ่งการทดลองเปรียบเทียบมีระดับการเกิดโรคร่วม เท่ากับ 2.10 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 19.05, 19.05, 19.05, 9.52 และ 4.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม, สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride และชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผงมีระดับการเกิดโรคร่วมต่ำที่สุด คือ 1.20 รองลงมาคือการใช้การ ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีระดับการเกิดโรคร่วม 1.40 และ 1.50 ซึ่งการทดลองเปรียบเทียบมีระดับการเกิดโรคร่วม เท่ากับ 2.00 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 40.00, 40.00, 40.00, 30.00 และ 25.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดย และหลังจากทดลองเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผงมีระดับการเกิดโรคร่วมต่ำที่สุด คือ 1.00 รองลงมาคือการใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride และเพนนิซิลเลียมชนิดผง มีระดับการเกิดโรคร่วม 1.10 และ 1.20 ตามลำดับ ซึ่งการทดลองเปรียบเทียบมีระดับการเกิดโรคร่วม เท่ากับ 2.10 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง, การใช้ไตรโคเดอร์มาชนิดผง, สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride และชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มี

เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 52.38, 52.38, 52.38, 47.62 และ 42.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13 - ภาพที่ 4.17- ภาพที่ 4.18)

จากการทดลองพบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพสามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอพันธุ์ทองดี หลังการทดลอง 3 เดือน การใช้ชีวผลิตภัณฑ์โตเมียมชนิดผงและชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผง มีการลดลงของโรคร่วมสูงสุดเท่ากับ 37.14 เปอร์เซ็นต์ โดยระดับการเกิดโรคร่วมลดลงอย่างต่อเนื่องจนไม่พบอาการโรคแอนแทรคโนสที่ใบและอาการกิ่งแห้งตาย อาการใบลาย ที่เกิดจากโรครากเน่าโคนเน่า ใบอ่อนที่แตกใหม่มีความสมบูรณ์คือ ใบมีขนาดใหญ่ ในวิธีการเปรียบเทียบ(Control)ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 3 ซึ่งแสดงอาการโรคโรครากเน่าโคนเน่าได้ชัดเจน มีอาการกิ่งแห้งตายและใบร่วงจำนวนมาก ใบที่แสดงอาการแอนแทรคโนส พบว่าแผลมีการขยายตัว การใช้ชีวผลิตภัณฑ์โตเมียมชนิดผงและชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ชนิดผงสามารถควบคุมโรคร่วมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4.9 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และมิทซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัด เชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}				
	หลังการปลูก เชื้อ 1 เดือน	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
		1	2	3	
Control	2.20a ^{2/}	2.00a	1.80a	1.40a	1.85
copper oxychloride	2.00a	1.60a	1.00ab	1.00a	1.40
คิโตเมียม	2.20a	1.40a	1.00ab	1.00a	1.40
ไตรโคเดอร์มา	2.20a	1.80a	1.20ab	1.00a	1.55
เพนนิซิลเลียม	2.00a	1.60a	1.40ab	1.00a	1.50
มิทซ์เจอร์	2.00a	1.40a	1.00ab	1.00a	1.35
CV(%)	14.55	28.93	34.40	20.96	

^{1/}ระดับคะแนนเกิดโรคแอนแทรกโนส (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.10 การลดลงของโรคแอนแทรคโนสของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}			
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
	1	2	3	
copper oxychloride	20.00	44.44	28.57	31.00
คิโตเมียม	30.00	44.44	28.57	34.34
ไตรโคเดอร์มา	10.00	33.33	28.57	23.97
เพนนิซิลเลียม	20.00	22.22	28.57	23.60
มิกซ์เจอร์	30.00	44.44	28.57	34.34

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ - ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

ตารางที่ 4. 11 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp.PP05 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}				
	หลังการปลูก เชื้อ 1 เดือน	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
		1	2	3	
Control	2.60a ^{2/}	2.20a	2.20a	2.80a	2.45
metalaxyl	2.40a	1.80a	1.40a	1.20b	1.70
คิโตเมียม	2.80a	2.00a	1.40a	1.00b	1.80
ไตรโคเดอร์มา	2.40a	2.20a	1.60a	1.00b	1.80
เพนนิซิลเลียม	2.40a	2.20a	1.60a	1.40b	1.90
มิกซ์เจอร์	2.60a	2.00a	1.40a	1.00b	1.75
CV(%)	29.27	22.52	35.90	31.68	

^{1/}ระดับคะแนนเกิดโรครากเน่าโคนเน่า (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตาย จากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจาก ยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจาก ยอดหรือมีรากเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจาก ยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4. 12 การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp.PP05 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโอเมี่ยม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}			
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
	1	2	3	
metalaxyl	18.18	36.36	57.14	37.23
คีโอเมี่ยม	9.09	36.36	64.29	36.58
ไตรโคเดอร์มา	0.00	27.27	64.29	30.52
เพนนิซิลเลียม	0.00	27.27	50.00	25.76
มิกซ์เจอร์	9.09	36.36	64.29	36.58

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

ตารางที่ 4.13 ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนสของส้มโอที่ปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 และ *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

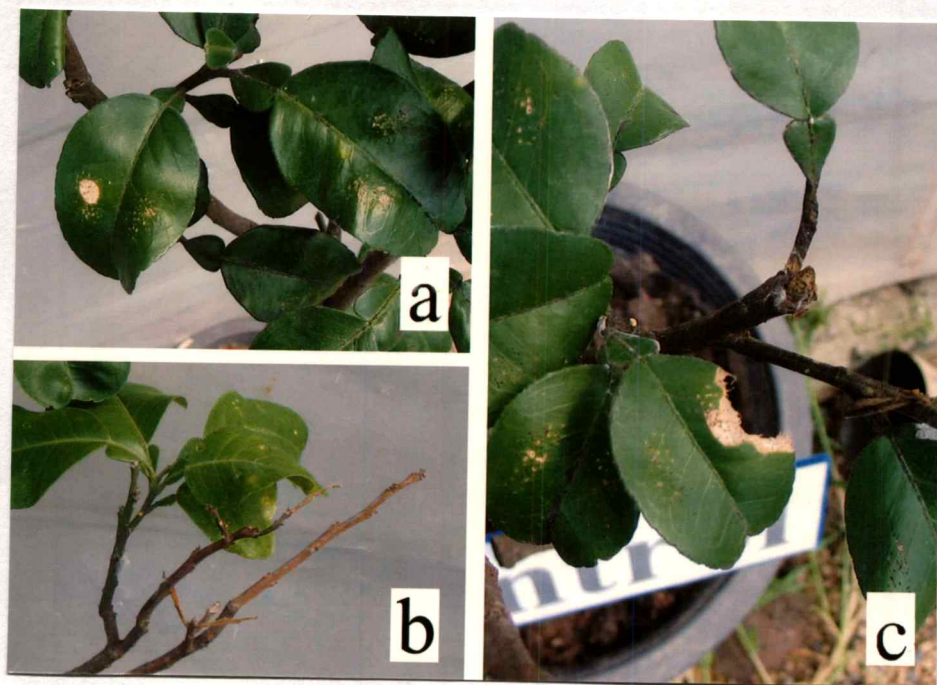
วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}				
	หลังการปลูกเชื้อ	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
	1 เดือน	1	2	3	
Control	2.30a	2.10a	2.00a	2.10a	2.13
metalaxyl และ copper oxychloride	2.20a	1.70a	1.20 b	1.10b	1.55
คีโตเมียม	2.50a	1.70a	1.20b	1.00b	1.60
ไตรโคเดอร์มา	2.30a	2.00a	1.40ab	1.00b	1.68
เพนนิซิลเลียม	2.20a	1.90a	1.50ab	1.20b	1.70
มิกซ์เจอร์	2.30a	1.70a	1.20b	1.00b	1.55
CV(%)	14.69	20.78	23.57	21.58	2.15

¹ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) = (ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า + ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส)/2

ตารางที่ 4.14 การลดลงของโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแตรคโนสของส้มโอที่ปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. PP05 และ *Colletotrichum gloeosporioides* CL03 หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมี่ยม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และมิกซ์เจอร์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในกระถางทดลอง

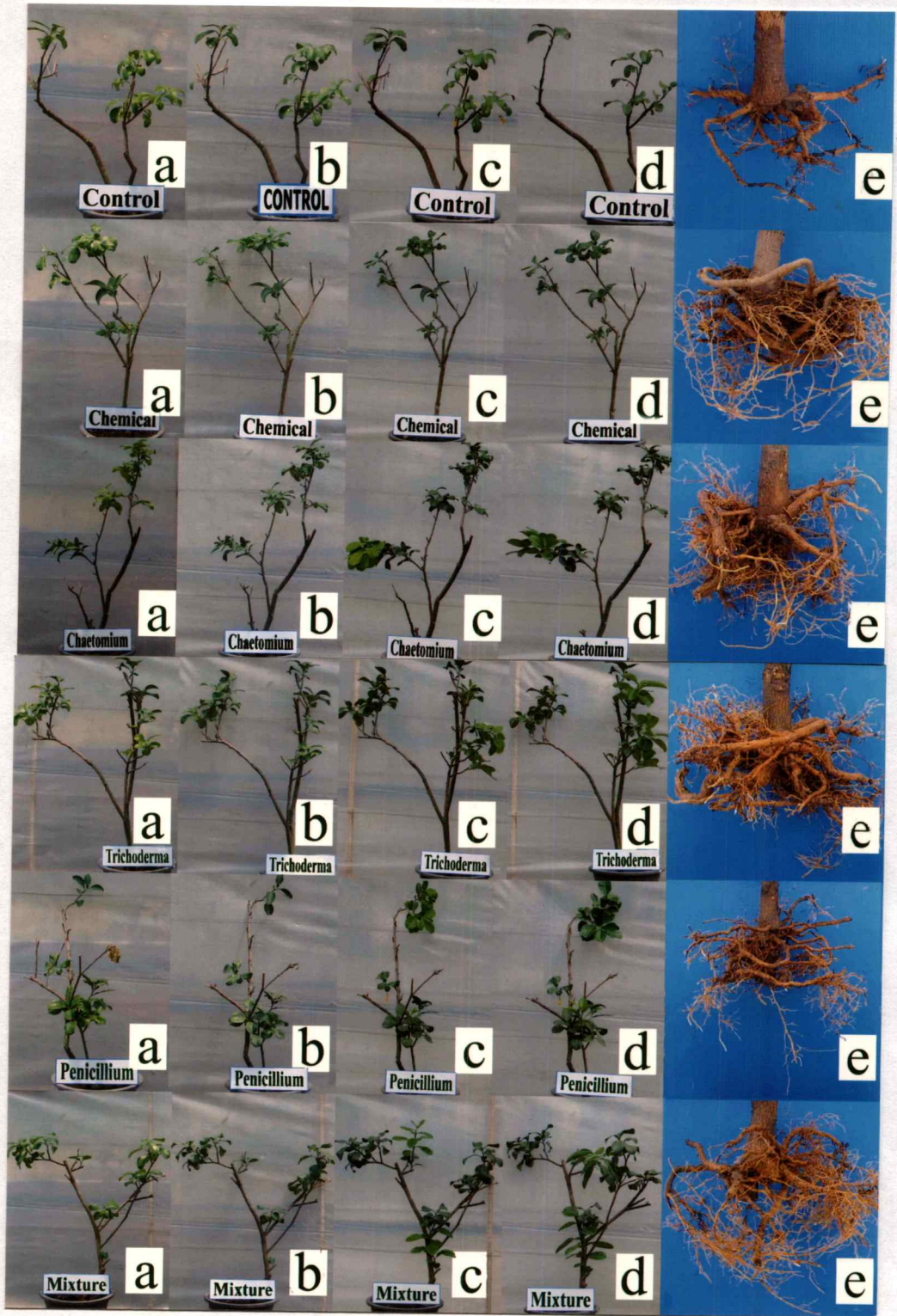
วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}			
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)			เฉลี่ย
	1	2	3	
metalaxyl และ copper oxychloride	19.05	40.00	47.62	35.56
คิโตเมี่ยม	19.05	40.00	52.38	37.14
ไตรโคเดอร์มา	4.76	30.00	52.38	29.05
เพนนิซิลเลียม	9.52	25.00	42.86	25.79
มิกซ์เจอร์	19.05	40.00	52.38	37.14

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ - ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100



ภาพที่ 4.17 ลักษณะอาการของโรคร่วมของอาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และอาการกิ่งแห้งตายจากโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp.

- a. อาการโรคแอนแทรคโนส
- b. อาการกิ่งแห้งตายจากโรครากเน่า
- c. อาการโรคร่วม



ภาพที่ 4.18 การควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าในกระถางทดลอง

a = ก่อนการทดลอง, b = ระยะเวลา 1 เดือน, c = ระยะเวลา 2 เดือน

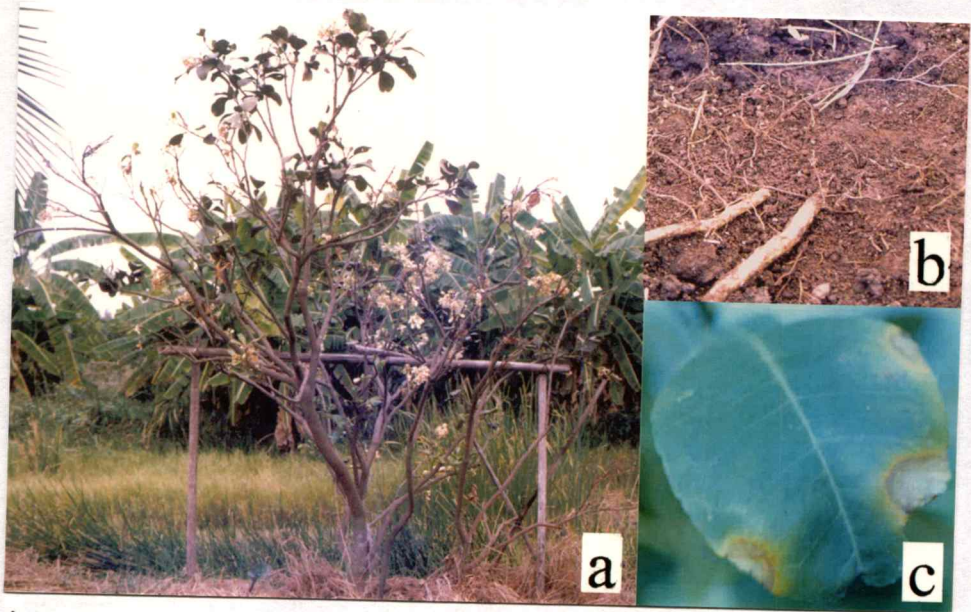
d = ระยะเวลา 3 เดือน, e = ลักษณะรากหลังการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลีียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพแปลงทดลอง

4.5.1 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอก่อนและหลังการทดลอง

จากการสำรวจแปลงส้มโอของคุณประยูรศรี ชาญณรงค์ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร พบว่าทำการปลูกส้มโอพันธุ์ทองดี มีอายุ 3 ปี สภาพดินในพื้นที่เพาะปลูก เป็นดินร่วนปนเหนียวทำให้การระบายน้ำไม่ค่อยดี ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินเฉลี่ย 3.8 การสำรวจโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในแปลงที่ทำการทดลองโดยการประเมินการเกิดโรคของต้นส้มโอจำนวน 30 ต้น ทำการสุ่มตัวอย่างโดยทำการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 6 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ พบว่า ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ย เท่ากับ 2.00 กล่าวคือพบอาการของโรคที่ส่วนของใบ 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ส่วนระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ย เท่ากับ 2.17 ลักษณะต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.15, ตารางที่ 4.19)



ภาพที่ 4.19 ลักษณะอาการโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มโออายุ 3 ปี

- ต้นส้มโอที่เริ่มเป็นโรครากเน่าโคนเน่า กิ่งแห้งตายและยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง
- รากที่มีอาการเน่า
- ลักษณะอาการบนใบของโรคแอนแทรคโนส

ตารางที่ 4.15 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ก่อนทำการ
ทดลอง

วิธีการ	แอนแทรกโนส ^{1/}	รากเน่าโคนเน่า ^{2/}	ระดับการเกิดโรครวม ^{3/}
Control	2.00	2.00a ^{4/}	2.00
metalaxyl และ copper oxychloride	2.00	2.20a	2.10
ไตรโคเดอร์มา	2.00	2.20a	2.10
เพนนิซิลเลียม	2.00	2.20a	2.10
คีโตเมียม	2.00	2.20a	2.10
มิกเจอร์	2.00	2.00a	2.00
เฉลี่ย	2.00	2.17	2.07

^{1/} ระดับคะแนนการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล
ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือ
ผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่
ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่ง
ตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่ง
ต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

^{2/} ระดับคะแนนเกิดโรครากเน่าโคนเน่า (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตาย
จากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจาก
ยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจาก
ยอดหรือมีรากเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตาย
จากยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่ง
แห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากการของ Sandler *et al.*, 1989)

^{3/} ระดับการเกิดโรครวม = (ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส + ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า) / 2

^{4/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P =
0.05โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

4.5.2 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา และเพนนิซิลเลียม ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ (คีโตเมียม + ไตรโคเดอร์มา + เพนนิซิลเลียม) ชนิดผง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride และไม่ใช้วิธีการใด (control) ในสภาพแปลงทดลองของเกษตรกร สวนคุณประยูรศรี ชาบุญรงค์ แขวงลำปางวาว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เพื่อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium* sp. และโรคแอนแทรคโนส สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธีการที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดผงจะใช้ในอัตรา 5 กรัม / ต้น โรยรอบโคนต้นทุก 4 เดือน และใช้ฉีดพ่นที่ส่วนบนโดยใช้อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ทุก 14 วัน และทำการฉีดสารสกัดรวมของเชื้อราในอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุก 14 วัน ทุกวิธีการทดลองใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับสภาพดิน ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินให้อยู่ในระดับ 5-7 ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 24 เดือน โดยทำการสำรวจระดับอาการโรครากเน่าโคนเน่า และอาการโรคแอนแทรคโนสก่อนทำการทดลอง พบว่าก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 2.20, 2.20, 2.20, 2.20 และ 2.00 ตามลำดับ หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า วิธีการใช้สารเคมี metalaxyl การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เท่ากับ 1.40, 1.20, 1.20, 1.00 และ 1.00 ตามลำดับ ในขณะที่ วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 1.80 วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเท่ากับ 33.33, 33.33, 44.44, 44.44 และ 22.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 8 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เท่ากับ 1.20, 1.40, 1.20, 1.20 และ 1.20 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 45.45, 36.36, 45.45, 45.45 และ 45.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังการทดลองที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า วิธีการใช้ ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรค ต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เท่ากับ 1.40, 1.60, 1.40, 1.40 และ 1.60 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 46.15, 38.46, 46.15, 46.15 และ 38.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.60 หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 1.00, 1.20, 1.00, 1.00 และ 1.20 ตามลำดับ ในขณะที่ วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.80 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 61.54, 53.85, 61.54, 61.54 และ 53.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.60 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 20 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 1.00 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 58.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.40 หลังการทดลองที่ระยะเวลา 24 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl มีระดับการเกิดโรค ต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 1.20, 1.60, 1.40, 1.20 และ 1.40 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 60.00, 46.67, 53.33, 60.00 และ 53.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 3.00 (ตารางที่ 4.16 - ตารางที่ 4.17 และ ภาพที่ 4.20)

สำหรับการเกิดโรคแอนแทรคโนส ก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรค แอนแทรคโนสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00 หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า ทุกวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.00 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 8 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เท่ากับ 1.20 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 33.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.80 หลังการทดลองที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา มิกเจอร์ และสารเคมี copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.20, 1.60, 1.60, 1.20 และ 1.40 และ

มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเท่ากับ 25.00, 0.00, 0.00, 25.00 และ 12.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.60 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 16 เดือน พบว่า ทุกวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.00 หลังการทดลองที่ระยะเวลา 20 เดือน พบว่า ทุกวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.00 หลังการทดลองที่ระยะเวลา 24 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา มิกเจอร์ และสารเคมี copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.00, 1.20, 1.20, 1.00 และ 1.00 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเท่ากับ 50.00, 40.00, 40.00, 50.00 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.00 (ตารางที่ 4.18- ตารางที่ 4.19 และ ภาพที่ 4.20)

สำหรับการเกิดโรคร่วม (disease complex) โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. และโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพแปลงปลูก ก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรคร่วม (disease complex) ใกล้เคียงกัน โดยวิธีการเปรียบเทียบ (control) การใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 2.10, 2.10, 2.10, 2.10 และ 2.00 ตามลำดับ หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และ การใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.10, 1.10, 1.00, 1.00 และ 1.20 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 21.43, 21.43, 28.57, 28.57 และ 14.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.40 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 8 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.20, 1.30, 1.20, 1.20 และ 1.20 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 40.00, 35.00, 40.00, 40.00 และ 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.00 หลังการทดลองที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.30,

1.60, 1.50, 1.30 และ 1.50 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 38.10, 23.81, 28.57, 38.10 และ 28.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.10 หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 16 เดือน พบว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และ การใช้สารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.00, 1.10, 1.00, 1.00 และ 1.10 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 44.44, 38.89, 44.44, 44.44 และ 38.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.80 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 20 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.00 และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 41.18 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.50 หลังการทดลองที่ระยะเวลา เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม มิกเจอร์ และสารเคมี metalaxyl และ copper oxychloride มีระดับการเกิดโรคต่ำกว่าวิธีการเปรียบเทียบ (control) เท่ากับ 1.10, 1.40, 1.30, 1.10 และ 1.20 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 56.00, 44.44, 48.00, 56.00 และ 52.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่วิธีการเปรียบเทียบ (control) มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 2.50 (ตารางที่ 4.20- ตารางที่ 4.21 และ ภาพที่ 4.20)

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คิโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองเป็นเวลา 24 เดือน พบว่าวิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์มิกเจอร์ มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค รวมเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 41.38 เปอร์เซ็นต์ การฉีดพ่นชีวผลิตภัณฑ์มิกเจอร์ ร่วมกับสารสกัดรวม และปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำบนทรงพุ่มและดินบริเวณทรงพุ่ม สามารถไปป้องกันและรักษาโรค ได้ รวมทั้งควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่อาศัยอยู่ในดินและบนทรงพุ่ม ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดผง เพื่อเป็นการปรับสภาพดินที่เป็นกรดให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืช และเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้าน ส่วนต้นส้มโอในวิธีการเปรียบเทียบ ต้นส้มโอโทรม ใบเล็กและมีอาการใบลาย กิ่งแห้งตาย

ตารางที่ 4.16 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}							
	ก่อนการทดลอง	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						เฉลี่ย
		4	8	12	16	20	24	
Control	2.00a ^{2/}	1.80a	2.20a	2.60a	2.60a	2.40a	3.00a	2.37
metalaxyl	2.20a	1.40ab	1.20b	1.60b	1.20b	1.00b	1.40b	1.43
คีโตเมียม	2.20a	1.20ab	1.20b	1.40b	1.00b	1.00b	1.20b	1.31
ไตรโคเดอร์มา	2.20a	1.20ab	1.40b	1.60b	1.20b	1.00b	1.60b	1.46
เพนนิซิลเลียม	2.20a	1.00ab	1.20b	1.40b	1.00b	1.00b	1.40b	1.31
มิกซ์เจอร์	2.00a	1.00ab	1.20b	1.40b	1.00b	1.00b	1.20b	1.26
CV%	18.36	25.38	30.58	25.22	46.84	32.87	37.24	

^{1/} ระดับคะแนนเกิดโรครากเน่าโคนเน่า (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มโอสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มโอแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มโอเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโอโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 75 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.17 การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอ หลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}						
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						เฉลี่ย
	4	8	12	16	20	24	
metalaxyl	22.22	45.45	38.46	53.85	58.33	53.33	45.27
คีโตเมียม	33.33	45.45	46.15	61.54	58.33	60.00	50.80
ไตรโคเดอร์มา	33.33	36.36	38.46	53.85	58.33	46.67	44.50
เพนนิซิลเลียม	44.44	45.45	46.15	61.54	58.33	53.33	51.54
มิกซ์เจอร์	44.44	45.45	46.15	61.54	58.33	60.00	52.65

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

ตารางที่ 4.18 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกในสบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}							
	ก่อนการทดลอง	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						เฉลี่ย
		4	8	12	16	20	24	
Control	2.00	1.00	1.80a ^{2/}	1.60a	1.00	1.00	2.00a	1.49
copper oxychloride	2.00	1.00	1.20a	1.40a	1.00	1.00	1.00b	1.23
คีโตเมี่ยม	2.00	1.00	1.20a	1.20a	1.00	1.00	1.00b	1.20
ไตรโคเดอร์มา	2.00	1.00	1.20a	1.60a	1.00	1.00	1.20b	1.29
เพนนิซิลเลียม	2.00	1.00	1.20a	1.60a	1.00	1.00	1.20b	1.29
มิทซ์เจอร์	2.00	1.00	1.20a	1.20a	1.00	1.00	1.00b	1.20
CV%	-	-	32.94	26.41	-	-	26.24	

^{1/}ระดับคะแนนเกิดโรคแอนแทรกในส (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1 – 20 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และเริ่มแสดงอาการกิ่งแห้งตาย 21 – 40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายเล็กน้อย 41 – 60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล และกิ่งตายปานกลาง 61 – 80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล กิ่งแห้งตายมาก จนกระทั่งต้นแห้งตาย 81 – 100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.19 การลดลงของโรคแอนแทรกในสบนต้นส้มโอ หลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก
ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}						เฉลี่ย
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						
	4	8	12	16	20	24	
copper oxychloride	0.00	33.33	12.50	0.00	0.00	50.00	15.97
คีโตเมียม	0.00	33.33	25.00	0.00	0.00	50.00	18.06
ไตรโคเดอร์มา	0.00	33.33	0.00	0.00	0.00	40.00	12.22
เพนนิซิลเลียม	0.00	33.33	0.00	0.00	0.00	40.00	12.22
มิกซ์เจอร์	0.00	33.33	25.00	0.00	0.00	50.00	18.06

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

ตารางที่ 4.20 ระดับการเกิดโรคร่วม (disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส ของต้นส้มโอ ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. และ *Colletotrichum gloeosporioides* ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือนของโรคแอนแทรคโนสบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค ^{1/}							
	ก่อนการทดลอง	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						เฉลี่ย
		4	8	12	16	20	24	
Control	2.00a	1.40a	2.00a	2.10a	1.80a	1.70a	2.50a	1.93
metalaxyl และ copper oxychloride	2.10a	1.20ab	1.20b	1.50b	1.10b	1.00b	1.20b	1.33
คีโตเมี่ยม	2.10a	1.10ab	1.20b	1.30b	1.00b	1.00b	1.10b	1.26
ไตรโคเดอร์มา	2.10a	1.10ab	1.30b	1.60ab	1.10b	1.00b	1.40b	1.37
เพนนิซิลเลียม	2.10a	1.00b	1.20b	1.50b	1.00b	1.00b	1.30b	1.30
มิกซ์เจอร์	2.00a	1.00b	1.20b	1.30b	1.00b	1.00b	1.10b	1.23
cv(%)	8.92	14.18	21.17	22.48	22.41	16.51	16.10	

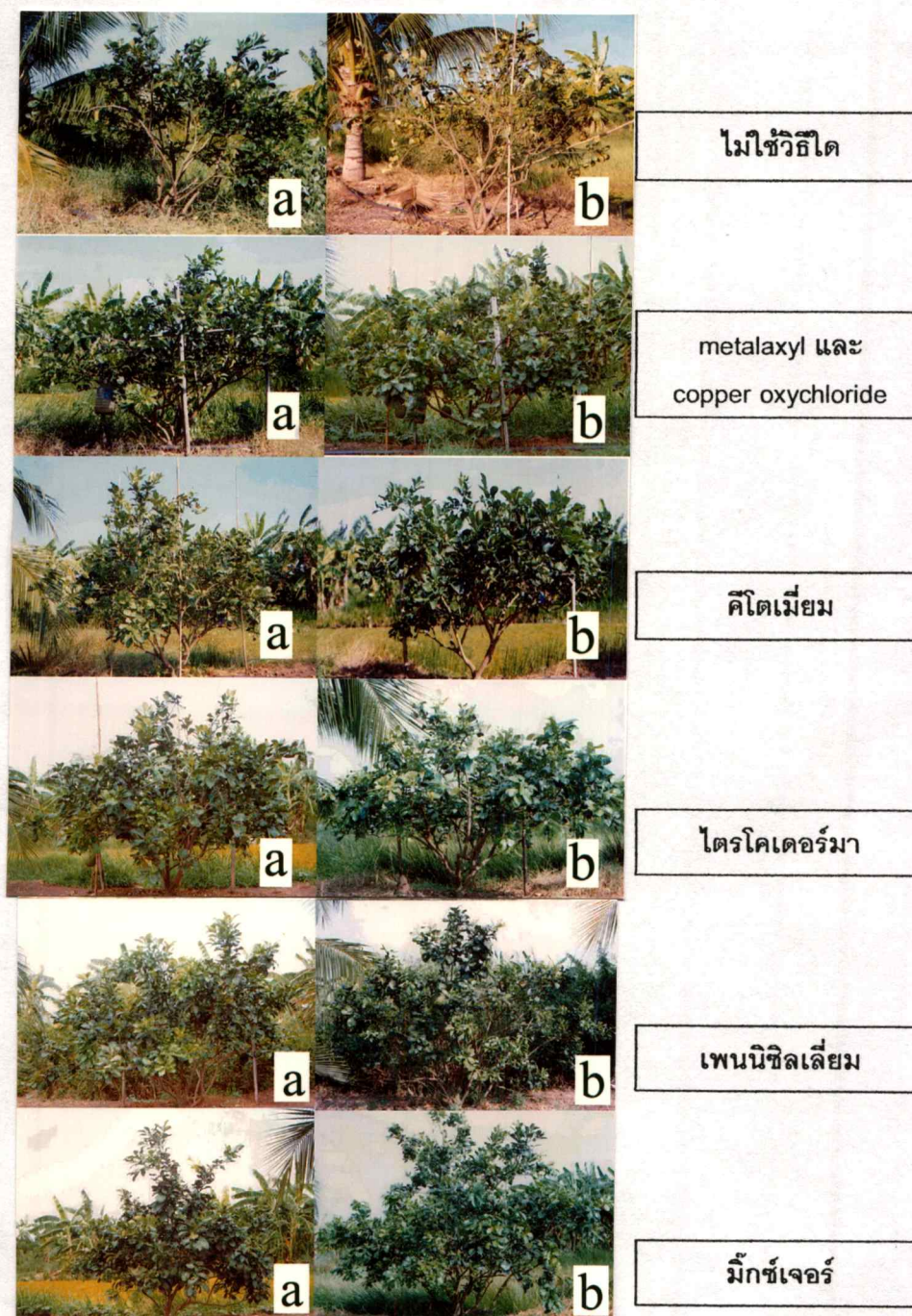
^{1/}ระดับการเกิดโรคร่วม (disease complex) = (ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า + ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส)/2

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.21 การลดลงการเกิดโรคร่วม (disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส ของต้นส้มโอ ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. และ *Colletotrichum gloeosporioides* หลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือนของโรคแอนแทรคโนสบนต้นส้มโอ ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 24 เดือน

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ^{1/}						เฉลี่ย
	หลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์(เดือน)						
	4	8	12	16	20	24	
metalaxyl และ copper oxychloride	14.29	40.00	28.57	38.89	41.18	52.00	35.82
คีโตเมียม	21.43	40.00	38.10	44.44	41.18	56.00	40.19
ไตรโคเดอร์มา	21.43	35.00	23.81	38.89	41.18	44.00	34.05
เพนนิซิลเลียม	28.57	40.00	28.57	44.44	41.18	48.00	38.46
มิกซ์เจอร์	28.57	40.00	38.10	44.44	41.18	56.00	41.38

^{1/}เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100



ภาพที่ 4.20 ต้นส้มโอกก่อนและหลังการทดลองในแปลงทดลอง เป็นเวลา 24 เดือน

a. ก่อนการทดลอง

b. หลังการทดลองเป็นเวลา 24 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่า สัมไอพันธุ์ของดีที่มีอาการแอนแทรคโนส มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งตรงกับรายงานของ วิรัช ชูบำรุง และคณะ (2528) และ ประไพศรี พิทักษ์ไพวัน (2546) รายงานว่าสามารถแยกเชื้อ *C. gloeosporioides* จากใบส้มโอที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส ส่วนอาการรากเน่าโคนเน่าของส้มโอ พบว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium* sp. ซึ่งไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย อย่างไรก็ตามเคยมีว่าเชื้อรา *Pythium* spp. เช่น *P. aphanidermatum* และ *P. ultimum* สาเหตุโรครากเน่าของส้ม (Ali, 1986; Hassan et al., 1989) เช่น ผลงานวิจัยครั้งนี้แตกต่างจากงานวิจัยที่เคยมีรายงานมาก่อน กล่าวคือมีรายงานว่าโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (วิเชียร กำจายภัย และ สุพัตรา อินทวิมลศรี, 2526) และ *Phytophthora* spp. (สุมาลี สุวรรณบุตร และ คณะ, 2542; ประไพศรี พิทักษ์ไพวัน, 2546)

จากการจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อรา *Pythium* sp. โดยจำแนกตาม ลักษณะสัณฐานวิทยา ซึ่งทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่าง และขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าสามารถจำแนกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ทั้งหมด 9 isolates พบว่าสปอร์ส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน สีใส เชลเดี่ยว แต่ละ isolate มีความแตกต่างกัน ทางด้านสีของโคโลนี บาง isolate โคโลนีสีขาวอมเทา สีขาว หรือสีขาวอมน้ำตาล หรือบาง isolate สร้าง conidia masses, chlamydospore บาง isolate อาจไม่สร้าง เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Freeman et al. (1998) ที่รายงานว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* ถึงแม้จะเป็น species เดียวกันแต่ต่างพืชอาศัยหรือพืชอาศัยชนิดเดียวกัน แต่ต่างแหล่ง หรือต่างสภาพการเจริญเติบโตก็มีผลทำให้สีของ culture ขนาด และรูปร่างสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ แตกต่างกันได้ เนื่องจากเชื้อรา species นี้มีความแปรปรวนมาก จากการทดลองนี้ปรากฏว่าสามารถแยกเชื้อ *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates ซึ่งแต่ละ isolate มี sporangia รูปร่างค่อนข้างกลม และมีขนาด sporangia แตกต่างกัน

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 9 isolates และ *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates กับใบส้มโอโดยวิธีการ detached leaf พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL09 มีความสามารถทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสรุนแรงมากที่สุด สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. พบว่าเชื้อ *Pythium* sp. PP04 มีความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่ารุนแรงมากที่สุด จึงส่งผลให้ผลที่เกิดมีความแปรปรวนได้ โดยมีทั้งขนาดผลเล็ก และผล

ใหญ่ สำหรับการทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. บนต้นส้มโอ พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 มีความสามารถทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นกล้าส้มโอรุนแรงมากที่สุด สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. พบว่าเชื้อ *Pythium* sp. isolate PP05 มีความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนต้นส้มโอรุนแรงมากที่สุด และเมื่อนำเชื้อ *Pythium* sp. isolate PP05 และเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกัน บนต้นกล้าต้นส้มโอ พบว่าจากการปลูกเชื้อทั้ง 2 isolate ลงบนต้นกล้าส้มโอต้นเดียวกัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. หรือเชื้อ *C. gloeosporioides* เพียงอย่างเดียว สำหรับการปลูกเชื้อทั้ง 2 ชนิดลงบนต้นเดียวกัน พบว่ามีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ยเท่ากับ 2.60 และมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 โดยต้นกล้าส้มโอจะโทรมลงอย่างรวดเร็ว ที่ใบจะมีลักษณะขีดเหลือง มีแผลจุดสีน้ำตาลถึงดำบนใบ และขยายวงกว้างออกไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งพบว่าความรุนแรงในการเกิดโรคในพืชอาศัยอาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคหลักเพียงเชื้อเดียวหรืออาจมีมากกว่าหลายเชื้อสาเหตุ และพบว่าการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสองชนิดหรือมากกว่าจะช่วยส่งเสริมทำให้เกิดโรคในพืชอาศัยรุนแรงเพิ่มขึ้นด้วย

สกัดสารจากจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC ที่เลี้ยงในอาหาร PDB โดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย เมื่อสกัดตัวทำละลายออกได้ crude extract จำนวน 5.71, 1.32, 2.47, 4.66 และ 3.15 กรัม ตามลำดับ

การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้านของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 สำหรับเชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 มีที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิกรัม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโคโคนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 48.56 และ 70.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคโคนีและการสร้างสปอร์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 2717 และ 1288 ppm. ตามลำดับ มีผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ เสาวภาคย์ สุวรรณพงษ์ และ เกษม สร้อยทอง (2545) และ พชรินทร์ พรหมนิกร และ พูนสุข พิงธรรม (2537) ได้รายงานว่าการสกัดจาก *Ch. globosum* โดยใช้ Hexane, Ethyl acetate และ Methanol ที่เป็นตัวทำละลาย มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* และสอดคล้องกับงานวิจัยของ วีระณีย์ ศรีพรมสุข และ คณะ (2539) รายงานว่าการใช้สารปฏิชีวนะ Chaetoglobosin-C ที่ผลิตจาก *Ch. globosum* สามารถลดการสร้าง spore และยับยั้งการ

เจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* สอดคล้องกับรายงานของ เมทินี ประชุมชน (2541) รายงานว่าสารปฏิชีวนะ Chaetocuprin ที่ผลิตจาก *Ch. globosum* สามารถลดการสร้าง spore และยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* และสอดคล้องกับรายงานของ วิไลรัตน์ ศรีนนท์ และ เกษม สร้อยทอง (2545) รายงานว่าสารปฏิชีวนะ Rotiorinol ที่ผลิตจาก *Ch. globosum* สามารถลดการสร้าง spore และยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Latinovic et al. (2000) รายงานว่า matruue olive fruit medium, immatruue olive fruit medium และ olive leaf medium สามารถลดการสร้าง spore และยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกในสของผลมะกอก และงานวิจัยของ Randhawa and Munshi (2003) รายงานว่า soyabean seed extract agar, soyabean stem extract agar สามารถลดการสร้าง spore และยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *C. truncatum* สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. PP05 พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตโคโคนี และการสร้าง sporangia เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 37.22 และ 78.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนี และการสร้าง sporangia ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 3619 และ 1677 ppm. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Di-Pietro et al., (1992) รายงานว่าสารปฏิชีวนะ Chaetomin สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้เช่นเดียวกัน และงานวิจัยของ Meepeung and Soyong (2004) รายงานว่าการใช้สารสกัดรวมของจุลินทรีย์ต่อต้านของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต *P. parasitica* และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ ขวัญใจ กนกเมธากุล และ คณะ (2536) ซึ่งรายงานว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* KMITL-N ที่เลี้ยงในรำข้าวและสกัดด้วย methyl chloride และ สารสกัดจากรา *Ch. cupreum* ที่เลี้ยงในอาหาร PDB และสกัดด้วย methyl chloride สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้ 97.61 และ 85.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Ameniya et al. (1994) รายงานว่าการใช้สารสกัด Chaetoglobosin A ซึ่งสกัดได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* ที่ความเข้มข้น 32 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ *Vericillium dahliae* สาเหตุโรคนมมะเขือเทศ ได้ ตรงกับรายงานของ Suwan et al. (2000) รายงานว่า *Trichoderma harzianum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ Trichotoxin A 50 ออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

การใช้สารสกัดรวม (crude extract) ของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ทางด้านสัณฐานวิทยา (Morphology) จากการ

นำ spore suspension เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ผสมสารสกัดรวมของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์และ germ tubes ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* CL03 มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.50 และ 5.00 ตามลำดับ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น จากนั้น cytoplasm จะเริ่มสลายตัว ผนังของสปอร์จะเปื่อยยุ่ยจนหมด สปอร์มีรูปร่างผิดปกติ ผนังสปอร์เริ่มมีรอยแตก จนในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) cytoplasm ไหลออกมาออกสปอร์ สปอร์จะสลายตัวในที่สุด ส่วนลักษณะ germ tubes จะงอกออกมาเพียงเล็กน้อยและจะหยุดการเจริญ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์และ germ tubes จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น จากนั้น cytoplasm จะเริ่มสลายตัว ผนังของสปอร์และ germ tubes จะเปื่อยยุ่ยจนหมด สปอร์มีรูปร่างผิดปกติ ผนังสปอร์และ germ tubes เริ่มมีรอยแตก จนในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) cytoplasm ไหลออกมาออกสปอร์ สปอร์และ germ tubes จะสลายตัวในที่สุด ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลายผนังเซลล์จากภายนอก (exolysis) Hu (1988) รายงานว่า *Bacillus cereus* (BC752) สามารถ lysis conidia ของเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *Bacillus subtilis* สามารถยับยั้งการงอกของ germ tubes และ lysis เส้นใยของเชื้อ *C. gloeosporioides* (Kim and Cho, 1995) และรายงานของ Bae et al. (1997) พบว่า kaempferol-3-O-beta-D-apiofuranosyl-(1→2)-beta-D-glucopyranoside ที่สกัดจากใบ *Phytolacca americana* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยการ lysis ผนังเซลล์ สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. PP05 พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ sporangia และ oospore มากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 โดย zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือมีสีน้ำตาลเข้ม จัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia และปล่อย zoospore เร็วกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ นอกจากนี้ sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว ต่างไปจากลักษณะเดิม ส่วนลักษณะ oospore ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน สีเปลี่ยนไปคือมีสีน้ำตาลเข้ม ooplast จะสลายตัว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ สมเดช และคณะ (2538) ได้รายงานว่ *Ch. cupreum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชื่อ Chaetocuprin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และ Haran et al. (1995) รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* สร้างสาร chitinolytic enzyme B-(1,3)-glucanase , lytic enzyme B- (1,3) - glucanase และ chitinolytic enzyme poly [1,4-B- (2- acetamido – 2- deoxy-D-glucoside) - glucanhydrolase] และ B-1,- N- acetylglucosaminidase เพื่อ

ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคและลดระดับการเกิดโรคได้ และ ประสิทธิภาพของสารจะขึ้นอยู่กับการทำลายสารสกัดให้ละลายได้ดีที่สุด จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าการละลายไม่ดี หรือบางกรณีอาจเป็นเพราะการใช้ชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากจุลินทรีย์เหล่านั้น นอกจากนี้ อาจเนื่องจากสารสกัดมีอายุการใช้งานสั้น เพราะโครงสร้างทางเคมีง่ายต่อการ oxidation จากสภาพอากาศ จึงส่งผลให้สารสกัดมีประสิทธิภาพลดลงและเสียไปในที่สุด และ คล้ายกับรายงานของ Heungens and Parke (2000) *Burkholderia cepacia* AMMDR1 สามารถ lysis zoospore และยับยั้งการเจริญของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของข้าวโพดหวาน

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ชนิดผง ใน อัตรา 5 กรัม / ต้น โรยรอบโคนต้นและใช้ฉีดพ่นที่ส่วนบนโดยใช้อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน และทำการฉีดสารสกัดรวมของเชื้อราในอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุก 7 วัน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา (copper oxichloride และ metalaxyl) และการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพกระถาง เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, ชีวผลิตภัณฑ์มิกเจอร์ชนิดผง, สารเคมี, ชีวผลิตภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดผง และ ชีวผลิตภัณฑ์เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสลดลงเท่ากับ 20.00 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, มิกเจอร์ชนิดผง, ไตรโคเดอร์มาชนิด, ผงสารเคมี และ เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีผลทำให้ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าลดลงเท่ากับ 64.29, 64.29, 64.29, 57.14 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการเกิดโรคร่วม การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, มิกเจอร์ชนิดผง, ไตรโคเดอร์มาชนิดผง, การใช้สารเคมี และ เพนนิซิลเลียมชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของการเกิดโรคร่วมเท่ากับ 52.38, 52.38, 52.38, 47.62 และ 42.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกเจอร์ชนิดผง ใน อัตรา 5 กรัม / ต้น โรยรอบโคนต้นทุก 4 เดือน และใช้ฉีดพ่นที่ส่วนบนโดยใช้อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร ทุก 14 วัน และทำการฉีดสารสกัดรวมของเชื้อราในอัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำ ทุก 14 วัน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา (copper oxichloride และ metalaxyl) และการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพแปลงทดลอง พบว่า ก่อนการทดลองทุกวิธีการมีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า, โรคแอนแทรคโนส หลังการทดลองพบว่า วิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม, มิกเจอร์ สารเคมี เพนนิซิลเลียม และ ไตรโคเดอร์มา มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่า เท่ากับ 60.00, 60.00, 53.33, 53.33 และ 46.67

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Sodsaart and Soyong (1999) รายงานการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของ *Chaetomium* (CG+CC) , *Trichoderma* (PC01-PC02) และวิธีการใช้ *Chaetomium* + *Trichoderma* ในอัตรา 20 กรัมต่อดัน ลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Neelamegam and Govindarajulu (2002) รายงานว่าการใช้ *T. viride* ผสมกับดินก่อนการปลูก สามารถลดการเกิดโรค damping off ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *P. indicum* ได้ 44 เปอร์เซ็นต์ Yamaji et al. (2001) รายงานว่า การใช้เชื้อรา *P. damascenum* (*P. melinii*) PGS - 07 สามารถป้องกันโรคเน่าคอต้น (damping off) ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium vexans* ของต้นกล้า *Picea glehnii* ได้ โดยพบว่า จำนวนต้นกล้าที่ inoculated ด้วยเชื้อ *P. vexans* เป็นเวลา 5 วัน หลังจากทำการ inoculated ด้วย *P. damascenum* PGS - 07 มีจำนวนต้นกล้าที่ไม่ตายมากกว่าในวิธีการที่ inoculated ด้วยเชื้อ *P. vexans* อย่างเดียว Soyong et al. (2000) รายงานว่า การทดสอบในภาคสนามโดยการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* sp. โรยรอบโคนต้นในอัตรา 20 กรัมต่อดัน และฉีดพ่นสารสกัดจาก *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* บนแปลงที่เกิดอาการเน่า ร่วมกับวิธีการเขตกรรม สามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ใช้ยาเชื้อ หลังจากใช้ยาเชื้อ 30 วัน พบว่า ปาล์มเกิดใบใหม่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *Chaetomium* สามารถรักษาโรค *Thielaviopsis* bud rot ได้ และนอกจากนี้ผลการทดลองใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ร่วมกับบอเทฟ (สารสกัดสร้างภูมิคุ้มกันโรค) สามารถชักนำพืชให้เกิดความต้านทานหรือเกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อราสาเหตุโรคได้มากขึ้น รายงานของ Noiaium et al., (1999) ซึ่งได้ทดสอบการใช้ชีวผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Chaetomium* sp. ในรูปเม็ด โดยใช้ในการป้องกันโรคแอนแทรกคโนสของมะม่วงพันธุ์โชคนันต์ โดยทดลองที่แปลงปลูกจังหวัดชลบุรี ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* sp. ชนิดเม็ดในอัตรา 20 กรัมต่อดัน ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อดัน พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกคโนสได้ 55.93 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ 55.53 เปอร์เซ็นต์ Soyong et al. (1999a) รายงานว่า การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจากเชื้อรา *Chaetomium* (*Ch. cupreum* CC1-10 และ *Ch. globosum* CG 1-12) ชนิดเม็ด ร่วมกับวิธีการเขตกรรมในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* สามารถลดการเกิดโรคและเชื้อก่อโรคได้ Freeman et al. (2000) รายงานว่าการใช้ *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินทั้ง 3 isolates คือ T-39, T-161 และ T-166 สามารถควบคุม *C. acutatum* สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสของสตอเบอร์รี่ในแปลงทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ สนชัย เพ็ชรพรหม (2540) รายงานว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ 81.04 เปอร์เซ็นต์ การใช้ *Trichoderma* ทำให้การเกิดโรคลดลง 80.60 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดโรคร่วม (disease complex) พบว่าวิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คือโตเมียม มิกเจอร์ สารเคมี เพนนิซิลเลียม และ ไตรโคเดอร์มา มี

เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เท่ากับ 56.00, 56.00, 52.00, 48.00 และ 44.00 เปอร์เซ็นต์
ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค พบเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญคือเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 9 isolates คือ CL01, CL02, CL03, CL04, CL05, CL06, CL07, CL08 และ CL09 เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มโอ และพบเชื้อรา *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates คือ PP01, PP02, PP03, PP04, และ PP05 เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 9 isolates และ *Pythium* sp. จำนวน 5 isolates พบว่าเชื้อ *Pythium* sp. isolate PP05 และเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CL03 ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกันบนต้นส้มโอ

การใช้สารสกัดรวม (crude extracts) ของจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* PC ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 และ *Pythium* sp. PP05 สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* CL03 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร ยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 48.56 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 70.09 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED₅₀) เท่ากับ 2717.66 และ 1288.02 ppm. ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. PP05 การใช้สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 37.22 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง sporangia เท่ากับ 70.07 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่ายับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี และการสร้าง sporangia ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED₅₀) เท่ากับ 3619 และ 1677 ppm. ตามลำดับ

การใช้สารสกัดรวม (crude extract) ของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. ทางด้านสัณฐานวิทยา (Morphology) พบว่าสารสกัดรวมสามารถเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Pythium* sp. เกิดการ lysis แบบ exolysis หลังการทดลองเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดรวมที่ระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์และและ germ tubes ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* มากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 4.50 และ 5.00 ตามลำดับ โดยสารสกัดรวมสามารถทำให้ cytoplasm ในสปอร์จะมีการรวมกันเป็นก้อน เปลี่ยนสี cytoplasm

จากสีขาวใสเป็นสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นสารสกัดรวมเริ่มย่อยสลายผนังของสปอร์จนเปื่อยยุ่ย เมื่อสลายผนังแล้ว cytoplasm ภายในสปอร์จะแตกสลาย สปอร์รูปร่างบิดเบี้ยว ในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) จน cytoplasm ไหลออกมาภายนอก ส่วนลักษณะ germ tubes โดยสารสกัดรวมจะยับยั้งให้ germ tubes หยุดการเจริญ โดยลักษณะ cytoplasm ในสปอร์และ germ tubes จะมีการรวมกันเป็นก้อนและมีสีเข้มขึ้น จากนั้นสารสกัดรวมเริ่มย่อยสลายผนังของสปอร์และ germ tubes จนเปื่อยยุ่ย เมื่อสลายผนังแล้ว cytoplasm จากนั้น cytoplasm จะเริ่มสลายตัว ผนังของสปอร์และ germ tubes จะเปื่อยยุ่ยจนหมด สปอร์และ germ tubes มีรูปร่างบิดเบี้ยวจากปกติ ผนังสปอร์และ germ tubes เริ่มมีรอยแตก จนในที่สุดสปอร์ก็จะแตก (lysis) cytoplasm ไหลออกมาจากสปอร์ สปอร์และ germ tubes จะสลายตัวในที่สุด สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. PP05 พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้น 2500 µg/มิลลิลิตร มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ sporangia และ oospore มากที่สุด โดยมีระดับการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 โดยสารสกัดจะทำให้ zoospore ใน sporangia จะมีสีเปลี่ยนไปคือมีสีน้ำตาลเข้ม และรูปร่างของ zoospore จะบิดเบี้ยว จากนั้น zoospore อัดตัวรวมกันแน่นอยู่กลาง sporangia และปล่อย zoospore เร็วกว่าปกติ โดย sporangia ยังมีรูปทรงบิดเบี้ยว ต่างไปจากลักษณะเดิม ผนังของ sporangia ถูกย่อยสลายจนเปื่อยยุ่ย ส่วนลักษณะ oospore ooplast ใน oospore จะมีการรวมกันเป็นก้อน สีเปลี่ยนไปคือมีสีน้ำตาลเข้ม ผนังของ oospore ถูกย่อยสลายจนเปื่อยยุ่ย ooplast จะสลายตัว เกิดจากอิทธิพลของสารสกัดรวม ที่เข้าทำลายผนังเซลล์จากภายนอก (exolysis)

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกซ์เจอร์ชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพกระถาง เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าการเกิดโรคร่วม การใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียมชนิดผง, มิกซ์เจอร์ชนิดผง และ ไตรโคเดอร์มาชนิดผง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของการเกิดโรคร่วมดีที่สุด เท่ากับ 37.14 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นส้มโอมีความสมบูรณ์ขึ้น ไม่พบอาการโรคแอนแทรคโนสที่ใบและอาการกิ่งแห้งตาย อาการใบลาย ที่เกิดจากโรครากเน่าโคนเน่า ใบอ่อนที่แตกใหม่มีความสมบูรณ์คือ ใบมีขนาดใหญ่และมีสีเขียวเข้ม ระดับการเกิดโรคร่วมลดลงอย่างต่อเนื่องทุกๆเดือน

การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมียม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลียม และ มิกซ์เจอร์ชนิดผง ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในสภาพแปลงทดลอง ทำการทดลองเป็นเวลา 24 เดือน พบว่าวิธีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคร่วมสูงสุด เท่ากับ 41.38 เปอร์เซ็นต์ การฉีดพ่นชีวผลิตภัณฑ์มิกซ์เจอร์ ร่วมกับสารสกัดรวมและปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิดน้ำบนทรงพุ่มและดินบริเวณทรงพุ่ม สามารถป้องกันและรักษาโรคได้ รวมทั้งควบคุมเชื้อสาเหตุโรคที่อาศัยอยู่ในดินและบนทรงพุ่ม ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพชนิด

ผง เพื่อเป็นการปรับสภาพดินที่เป็นกรดให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืช และเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้าน

บรรณานุกรม

- เกษม สร้อยทอง. 2532 ก. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. กรุงเทพฯ :
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกษม สร้อยทอง. 2532 ข. "การใช้เชื้อรา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของ
ข้าวโดยชีววิธี". วารสารโรคพืช. 9(1) : 28-33.
- เกษม สร้อยทอง. 2532 ค. "การควบคุมโดยชีววิธีของโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวานที่เกิดจาก
เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่". วารสารโรคพืช. 9(2-4) : 47-53.
- เกษม สร้อยทอง. 2533. "ประสิทธิภาพของ *Chaetomium cochliodes* และ *Chaetomium
cuniculorum* ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคไหม้ของข้าวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา
Pyricularia oryzae". วารสารแก่นเกษตร. 18(2) : 89-96.
- เกษม สร้อยทอง. 2534 ก. "การใช้ *Chaetomium glaucum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ
เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. โดยชีววิธีในสภาพไร่". วารสารวิจัย
และส่งเสริมการเกษตร. 8(12) : 1-7.
- เกษม สร้อยทอง. 2534 ข. "การใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของ
ข้าวโพด". หน้า 269-275. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกษม สร้อยทอง. 2534 ค. "การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจาก
เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่โดยชีววิธี". วารสารศูนย์บางพระ. 28(2) : 17-
19.
- เกษม สร้อยทอง. 2535 ก. "การใช้ยาที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรค
เหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพ
ดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช". วารสารศูนย์บางพระ. 29(2) : 13-16.
- เกษม สร้อยทอง. 2535 ข. "การผลิตยาเชื้อสำหรับควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี". หน้า 310-317. ใน
รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 30
สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกษม สร้อยทอง. 2536 ก. "การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด
หวานที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* โดยชีววิธี". วารสารศูนย์บางพระ.
30(1) : 17-19.

- เกษม สร้อยทอง. 2536 ข. "การพัฒนา *Chaetomium cupreum* เป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราในดินเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี". หน้า 375 – 387 ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงแรมรามาการ์เด็นท์.
- เกษม สร้อยทอง และ กอบบุญ สร้อยทอง. 2538. "คีโตเมียมควบคุมโรคพืช." ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 36(392) : 8-9.
- เกษม สร้อยทอง และ ชลฎา สถิตวัฒน์ไทย์. 2536. "การควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. โดยชีววิธี". หน้า 388 – 393 ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงแรมรามาการ์เด็นท์
- ขวัญใจ กนกเมธากุล สมเดช กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. 2536. "การทดสอบการใช้สารสกัดจากรา *Chaetomium* และ สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ." วารสารส่งเสริมวิชาการเกษตร. 10 (-) : 5-10.
- ขวาลา บุรณศิริ. 2527. "โรคกล้าเน่าของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* Kuhm. และ *Sclerotium rolfsii* Sacc. สามไอโซเลท และการป้องกันกำจัด". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชลอ ชำนาญพิทักษ์. 2539. โรคไม้ผลและการป้องกันกำจัด. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.
- ถิรต์ สมารักษ์ และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การใช้จุลินทรีย์คีโตเมียมควบคุมโรคแอนแทรคในสของปาล์มโดยชีววิธี". หน้า 19 - 20. ใน รายงานการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ จักรพงษ์ เจริญศิริ. 2541. โรคไม้ผล. สำนักงานวิจัยและพัฒนาเขต 6, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ประไพศรี พิทักษ์ไพรวณ. 2546. "วิจัยและพัฒนาการอารักขาส้มโอ". ผลปฏิบัติงานรอบ 6 เดือน (ตุลาคม 2545 – มีนาคม 2456).กลุ่มภารกิจวิจัยและพัฒนาวิชาการเฉพาะด้าน, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 124-126.
- เปรมปรี ณ สงขลา. 2538. รวมกลยุทธส้ม. กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์.
- พรพรรณ อุสุวรรณ และ เกษม สร้อยทอง. 2541. "การควบคุมโรคครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โดยชีววิธี". หน้า 862. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 24. กรุงเทพฯ : ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.

- พัชรินทร์ พรหมนิกร และ พูนสุข พึ่งธรรม. 2537. "การสกัดและวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมี ในราศีโตเมียม โกลโบซัม." ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เมทินี ประทุมชน. 2541. "การใช้ Chaetocuprin สารปฏิชีวนะจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส". ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วนรักษ์ มีพึ่ง และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของมะนาว". หน้า 699. ใน รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. วันที่ 24-26 ตุลาคม 2545. กรุงเทพฯ : ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.
- วนรักษ์ มีพึ่ง. 2547. "การใช้เชื้อราต่อต้านในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของมะนาว". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วิเศษ อัครวิทยากุล. 2538. การปลูกส้มโอ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิเชียร กำจายภัย และ สุพัตรา อินทวิมลศรี. 2526. "โรคโคนเน่าของส้มโอ". วารสารโรคพืช. 3(4) : 201-203.
- วิเชียร ดีทอง , เกษม สร้อยทอง และสมเดช กนกเมธากุล. 2543. "การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน (*Citrus reticulata* Blanco c.v. Shogun) โดยใช้วิธีแบบผสมผสาน". วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 17(2): 31-42.
- วิรัช ชูบำรุง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และ พัฒนา สนิธิรัตน์. 2528. "การศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. ผลงานประจำปี 2528. กลุ่มงานวิทยาไมโค, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. หน้า 128-140.
- วิไลรัตน์ ศรีนนท์ และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การใช้เชื้อราต่อต้านในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสขององุ่น." หน้า 202 - 203. ใน รายงานการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- วิไลรัตน์ ศรีนนท์. 2546. "การใช้เชื้อราต่อต้านในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสขององุ่น". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- วีระณีย์ ศรีพรหมสมเดช กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. 2539. "การศึกษาลักษณะความต้องการทางสรีรวิทยาของเชื้อรา *Colleotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz&Sacc. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) และการควบคุมโรคโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์." *วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*. 16(2) : 25-34.
- ศรีสวาท ศรีสุวรรณ. 24-541. "การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเชื้อรา *Chaetomium cupreum*". *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น*.
- สุมาลี สุวรรณบุตร, อุบล คือประโคน และ ชำนาญ ทองกลัด. 2542. "ศึกษาอิทธิพลของต้นตอส้มที่มีความต้านทานโรคโคนเน่าต่อการเจริญเติบโตด้านผลผลิต และคุณภาพของส้มโอพันธุ์การค้า". *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2542. ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. หน้า 42-46./
- สมิตรา น้อยเอี่ยม. 2540. "การควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยวิธีผสมผสาน". *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง*.
- สุภาพร อวัญ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ, ภราดรพันธุ์วัฒน์ และ รวี เสฐฎักดี. 2537. การใช้ส่วนผสมของเชื้อรา *Trichoderma* ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อรา ในการควบคุมเชื้อราโรครากเน่าและโคนเน่าของกล้วยrienซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivola*. *รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาพืช วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2537. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 162-179*.
- สุริรัตน์ สิมะเดื่อ จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภราดรพันธุ์วัฒน์ และ ขวลิติ ยังประยูร. 2540. "การประยุกต์การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสวนของเกษตรกร" หน้า 315 ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาพืช. กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*.
- สุวิทย์ ชีโนสิทธิ์. 2531. "การปลูกส้ม" กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์ศูนย์หนังสือเกษตร บางเขน.
- สุภัทรา จิตเกษมสุข และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมโรคของสละโดยชีววิธี." หน้า 151 - 152. ใน *รายงานการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*.

- สมเดช กนกเมธากุล, ขวัญใจ กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. 2538. "การศึกษาสารเคมีจากเชื้อรา คีโตเมียม คิวเปรม". รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2538, ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สมศักดิ์ วรรณศิริ. 2531. มะนาว. กลุ่มเกษตรสัญจร. กรุงเทพฯ : สหมิตรอพเชด
- สนชัย เพ็ชรพรหม. 2540. "การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler โดยชีววิธีแบบผสมผสาน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เสาวภาคย์ สุวรรณพงษ์ และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การทดสอบสารออกฤทธิ์ที่สกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน." หน้า 697. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. กรุงเทพมหานคร : ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.
- องอาจ เดิมเกียรติไพศาล, จิเรศ แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภราครันุวัฒน์ และวี เสรรฐักติ. 2534. " การคัดเลือก เชื้อจุลินทรีย์ดินเพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า *Phytophthora* ของส้มเขียวหวาน โดยชีววิธี". รายงานการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 319-329.
- Ahmed, S.A., Perez, S.C., Ezziyyani, M., Candela, M.E., Elad, Y., Freeman, S. and Monte, E. 2001. "Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens". Bulletin-OILB-SROP. 24(3) : 265-269.
- Alagesaboopathi, C. 1994. "Biological control of damping-off disease of cotton seedling". Current Science. 66(11) : 865 – 868.
- Ali, M.S. 1986. "Occurrence of *Pythium* spp. in some Middle Eastern field soils and on roots of some economic plants". Phytopathologia Mediterranea. 25(1-3) : 47-53.
- Amemiya, Y., Kondo, A., Hiano, K., Hirukawa, T. and Kato, T. 1994. "Antifungal Substances Produced by *Chaetomium globosum*". Technical Bulletin of Faculty of Horticulture : Chiba University . 48(2) : 13-18.
- Anil. K., Kushal, R., Kumar, A. and Raj, K. 2001. "Effect of Bio-agents on *Colletotrichum falcatum* incident of red rot in sugarcane". Cooperative sugar. 32(5) : 355 – 357.

- Ann, P.J., Ko, W.H. and Su, H.J. 2004. "Interaction between *Likubin* bacterium and *Phytophthora parasitica* in citrus hosts". *European Journal of Plant Pathology*. 110: 1-6.
- Bae, E.Y., Shin, E.J., Lee, D.H., Koh, Y.J. and Kim, J.H. 1997. "Antifungal kaempferol-3-O-beta-D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-beta-D-glucopyranoside from leaves of *Phytolacca americana* L.". *Korean Journal of Plant Pathology*. 13(6) : 371-376.
- Biswas, S.K., Srivastava, K.D., Aggarwal, R. and Singh, D.V. 2002. "Evaluation of *Chaetomium globosum* as an inducer of resistance against spot blotch pathogen of wheat". *Indian Phytopathology*. 55(4) : 510 – 512.
- Biswas, S.K., Srivastava, K.D., Singh, D.V., Aggarwal, R. and Praveen, S. 2003. "Biochemical changes in wheat induced by *Chaetomium globosum* against spot blotch pathogen." *Indian-Phytopathology*. 56(4): 374-379.
- Broubos, V.A., Michlopoulos, G., Skaoudridakis, M.T., Albajes, R. and Carnero, A. 1997. "Biological control against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* on tomato in anon-beated greenhouse". *Integrated control in protected crops Mediteranean climate*. Proceeding of meeting at tenerite, Canary Islands. 20(4):58-62.
- Cal, A.D., Pas, C.S., Larina, I. And Melgarejo, P. 1995. "Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Plant Pathology*. 44(5) : 909-917.
- Cal, A.D , Garcia, L.R, Melgarejo, P., Schmitt, A. and Mauch, M.B. 2002. "Mechanisms of induction of resistance to diseases in tomato plants by *Penicillium oxalicum*". *Bulletin-OILB-SROP*. 25(6) : 183-186.
- Chambers, S.M. and Scot, E.S. 1995. "In Vitro Antagonism of *Phytophthora cinnamoni* and *Phytophthora citricola* by Isolates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*." *Phytopathology*. 143 (8):471-477.
- Chandrasrikul, A. 1962. A preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 6, Dept. of Agr., Bangkok. 23 p.
- Chang, I. and Kommedahl, T. 1968. "Biological control seeding blight of corn by coating kemels with antagonistic microorganism." *Phytopathology*. 58 (12):1395-1401.

- Chaudhary, R.G. and Prajapati, R.K. 2004. "Comparative efficacy of fungal biological agents against *Fusarium udum*." *Annals of Plant Protection Sciences*. 12(1):75-79.
- Corder, M.P. and Melo, I.S. 1998. "IN vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Verticillium dahliae* Kleb." *Scientia Agricola*. 55(1):1-7.
- Correll, J.C., Morelock, T.E. and Guerber, J.C. 1993. Vegetative compatibility and virulence of the spinach anthracnose pathogen *Colletotrichum dematium*. *Plant Disease*. 77(5) : 688-691.
- Cruz, A.M. and Cistemg, O.V. 1998. Integated control of *Phytophthora capsici* in pepper. *Agricultura Tecnica satiago*. 58(2):81-92.
- Cumagum, C.J.R. and Ilang, L.L. 1997. "Parasitism of Sclerotial Bodies of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and *Penicillium oxalicum*." *Philippine Phytopathology*. 33(1) : 17-26.
- Devaki, N.S., Bhat, S.G., Bhat, S.G., Manjunatha, K.R. and Shankara Bhat, S. 1992. "Antagonistic Activities of *Trichoderma harzianum* Against *Pythium aphanidermatum* and *Pythium myriotylum* on Tobacco." *Phytopathology*. 136(1) :82-87.
- Dhedhi, B.M., Jharia, H.K. and Gupta, O. 2002. "Management of fusarial wilt of chickpea through antagonistic micro-organisms." *JNKVV Research Journal*. 35(1-2):38-42.
- Di Pietro, A.D., Gut, R.M., Pachlatko, J.P., Schwinn, F.J. and Di, P.A. 1992. "Role of Antibiotics Produced by *Chaetomium globosum* in Biological of *Pythium ultimum*, A Causal Agent of Damping Off." *Phytopathology*. 82 (2) : 131-135.
- Dong, H. and Cohen, Y. 2002. "Induced Resistance in Cotton Seedlings Against *Fusarium Wilt* by Dried Biomass of *Penicillium chrysogenum* and Its Water Extract." *Phytoparasitica*. 30(1) : 77-87.
- Dong, H.Z., Li, W.J., Zhang, D.M. and Tang, W. 2003. "Differential expression of induced resistance by an aqueous extract of killed *Penicillium chrysogenum*
- Dorrance, A.E., Berry, S.A., Bowen, P. and Lipps, P.E. 2004. "Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity". *Plant-Health-Progress*. February: 1-7.

- Elad, Y., Chet, I. and Katan, J. 1980. "*Trichoderma harzianum* : A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*". *Phytopathology*. 70 : 119-121.
- Elad, Y., Shakti, B., Nitzani, Y., David, R.D., Bhardwaj, S., Kohl, J.b. and Shtienberg, D., 2002. "Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Trichoderma* spp. resistance-inducing isolates as modified by spatial, temporal and host plant factors". *Bulletin-OILB-SROP*. 25(10) : 17-20.
- Erwin, D.C., Bartnicki, G.S. and Tsao, P.H. 1983. *Phytophthora* : Its Biology, Taxonomy Ecology, and Pathology. APS Press, St. Pual, Minnesota, 392 pp.
- Fang J.G. and Tsao, P.H. 1995. "Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a Biological Control Agents Against Phytophthora Root Rot of Azalea and Citrus." *Phytopathology*. 85(8) : 871-878.
- Freeman, S., Katan, T. and Shabi, E. 1998. "Characterization of Colletotrichum Species Responsible of Antracnose Disease of Various Fruit. *Plant Disease*. 82(4) : 596-605.
- Garcia, L.R., Cai, A., Pescal, S., Melgarejo, P., Duff, B., Rosenberge, U. and Defago, G. 1998. "Induced resistance against Fusarium wilt of tomato by *Pencillium oxalicum* is not associated to pathogenesis related protein". *Bulletin Oil Crop*. 21(9):123-127.
- Gohil, V.P. and Vala, D.G. 1996. "Antagonistic effect of microorganisms to *Fusarium Moniliforme*". *Madras Agricultural Journal*. 83(6) : 396 – 397.
- Gordon, L.G., Walther, D. and Gindrat, D. 1987. "Use of antagonists for seed dressing : effectiveness and mode of action against pathogens of damping-off". *Bulletin-OEPP*. 17(4):631-637.
- Haran, S., Openhein, A. and Chet, I. 1995. "New components of the chitinolytic system of *Trichoderma harzianum*". *Mycological research*, 99(44) : 441-446.
- Harman, G.E., Petzoldt, R., Comis, A. and Chen, J. 2004: "Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*." *Phytopathology*. 94(2):147-153.

- Hassan, M.S., Behadli, A.H. and Alsaadawi, I.S. 1989. "Citrus replant in Iraq. III. Interactive effect of soil fungi and allelopathy". *Plant and Soil*. 116(2) : 161-166.
- Hassan, S.A. and Gowen, S.R. 2003. "Mechanisms in the biological control of lentic vascular wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*) by *Trichoderma hamatum*." The BCPC International Congress: Crop Science and Technology, Volumes 1 and 2. Scotland, 10-12 November 2003. 651-654 pp.
- Heungens, K. and Parke, J.L. 2000. "Zoospore homing and infection events: effects of the biocontrol bacterium *Burkholderia cepacia* AMMDR1 on two oomycete pathogens of pea (*Pisum sativum* L.)". *Applied and Environmental Microbiology*. 66(12) : 5192-5200.
- Heye, C.C. and Andrews, J.H. 1983. "Antagonism of *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to The Apple Scab Pathogen, *Venturia inequalis*." *Phytopathology*. 73 : 650-654.
- Hu, B.F. 1988. "Two potential bacterial biological control agents of some common forest diseases". *Chinese Journal of Biological Control*. 4(4) : 172-175.
- Hubbard, J.P., Harman, G.E. and Eckenrode, C.J. 1982. "Intractions of a biological control agent, *Chaetomium globosum* with seed coat microflora". *Ann. Rev. Plant Pathology*. 61:464.
- Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Soyong, K. and Suksamrarn, A. 2004, "Bioactivity Compounds from *Chaetomium cupreum*, *C. globosum* and *Trichoderma harzianum*". 166-169. in *Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development*. V2. Bangkok, KMITL.
- Kim, B.S. and Cho, K.Y. 1995. "Antifungal effects on plant pathogenic fungi and characteristics of antifungal substances produced by *Bacillus subtilis* SJ-2 isolated from sclerotia of *Rhizoctonia solani*". *Korean Journal of Plant Pathology*. 11(2) : 165-172.
- Klakpech, P. and Soyong, K. 2000. "Application of Biological Products from *Chaetomium* spp. for Controlling of Cycads." in *The International Conference Tropical Agriculture Technology for Better Health and Environment*. Nakhon

- Pathom : The Central Laboratory & Greenhouse Complex, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Thailand.
- Knudsen, G.R. and Eschen, D.J. 1991. "Potential for Biocontrol of *Sclerotinia sclerotium* Through Colonization of Sclerotia by *Trichoderma harzianum*." *Plant Disease*. 75(5): 466-470.
- Kohl, J., Gerlagh, M. and Grit, G. 1995. Biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* in different production systems of cyclamen. *Plant Disease*. 84:569-573.
- Kommedahl, T. and Chang, I Pin. 1968. "Coating Corn Kemels with Microorganisms to Control Seedling Blight Caused by *Fusarium roseum*." *Phytopathology*. 56 :885.
- Koohakan, P., Furukawa, H., Sato, S. and Ikeda, H. 2004. "Induced systemic resistance of hydroponically grown tomato against Pythium root rot". 267-271. in *Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development*. V2. Bangkok, KMITL.
- Kyselakova , M. and Nemcova, A. 1997. "The Study of Efficiency of Bio Fungicide Against Blue Mould (*Bortyotinia fuckeliana* de Bary Whetzel) on Grapevine: Treatment of Fermentation." *Zahradnictvi*. 24 (3) : 99-104.
- Lakin, R.P. and Fravel, D.P. 1998. "Effication of various fungal and Bacterial biocontrol organisms for *Fusarium* wilt of tomato". *Plant Disease*. 82(9):1022-1025.
- Lal, H.C. and Upadhyay, J.P. 2002. "Biological control of leaf blight caused by *Alternaria tenuissima* (Kunze ex. Pers.) Wiltshire in pigeon pea". *Journal-of-Biological-Control*. 16(2) : 141-144..
- Larena, I. And Melgarejo, P. 1996. "Biological control of *Monilinia laxa* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by alytic enzyme producing *Penicillium purpurogenum*. *J.Biological control*. 6(3) : 361-367.
- Larena, I., Cal, A.D., Melgarejo, P., Elad, Y., Freeman, S. and Monte, E. 2001. " Involvement of population levels of *Penicillium oxalicum* in the biocontrol of tomato wilt". *Bulletin-OILB-SROP*. 24(3) : 67-70.
- Latinovic, J., Vucinic, Z., Vitagliano, C. and Martelli, G.P.2000. "Cultural characteristics, pathogenicity, and host range of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from olive plants in Montenegro". 753-755. in *Proceedings of the 4th International*

- Symposium on Olive Growing, Volume 2. Valenzano, Italy, 25-30 September, 2000.
- Liu, F.Q. and Wang, J.S. 2000. "Preliminary study on resistance of rice seedling of leaf blight induced by salicylic acid." *Acta Phytophylacica Sinica*. 27(1):47-52.
- Lo, C.T., Nelson, E.B. and Harman, G.E. 1997. "Improved Biocontrol Efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295 - 22 for Foliar Phases of Turf Diseases by Use of Spray Applications." *Plant Disease*. 81(9) : 1132-1138.
- Mackenzie, A.J., Starman, T.W. and Windham, M.T. 1995. "Enhanced root and shoot growth of chrysanthemum cuttings propagated with the fungus *Trichoderma harzianum*." *Hort Science*. 30(3):496-498.
- Maheshwari, D.K., Dubey, R.C. and Sharma, V.K. 2001. "Biocontrol effects of *Trichoderma virens* on *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut". *Indian-Journal-of-Microbiology*. 41(4) : 251-256.
- Mathur, K. and Gurjar, R.B.S. 2002. "Evaluation of different fungal antagonists, plant extracts and oil cakes against *Rhizoctonia solani* causing stem rot of chilli". *Annals-of-Plant-Protection-Sciences*. 10(2) ; 319-322.
- Martinez, B., Gonzales, R. and Balance, C. 1998. "Antagonism of *Trichoderma* spp. strains on some sugarcane pathogens." *Fitopatologia*. 33(4):207-211.
- Meepeung, W. and Soyong, K. 2004. "Testing Crude Extract Mixture from Microbial Antagonists to Control Plant Pathogens of Lime". 229-231. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Michereff, S.J. , Menezes, M. and Mariano, R.L.R. 1993. "Antagonism of *Trichoderma* Species Against *Colletotrichum graminicola*, An Agent of Sorghum Anthracnose Under Laboratory Conditions. *Phytopathology*. 19(1) : 14-17.
- Neelamegam, R. and Govindarajulu, T. 2002. 'Iterated application of *Trichoderma viride* Pers. And farmyard manure to control damping off of tomato". *Journal of Biological Control*. 16(1) : 65 – 69.
- Ngueko, R.B., Shen, Y. and Xu, T. 2002. "Induced resistance in rice plants by *Trichoderma harzianum* P1 and its efficiency to *Magnaporthe grisea*". *CRRN,-Chinese-Rice-Research-Newsletter*. 10(3-4) :16-18.

- Noiaium, S. and Soyong, K. 1999. "Integrated Biological Control of Mango cv. Choakanon." Proceedings of the sixth International Mango Symposium, Pattaya. 6-9 April 1999. 1-13 pp.
- Nzobjibiri, J.B., Xu, T., Song, F.M. and Shen, Y. 2003. "Resistance induced by *Trichoderma harzianum* NF9 against *Magnaporthe grisea* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice." Chinese Journal of Biological Control. 19(3):111-114.
- Pechprom, S. and Soyong, K. 1997. "Integrated Biological control of durian stem and root rot caused by *Phytophthora palmivora*" .228 – 237 in Proceeding of the First International Symposium on Biopesticides. Bangkok : Thailand.
- Peng, X.W., Zhang, H.X. and Bai, Z.H. 2004. "Induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber by pectinases extract of *Penicillium oxalicum*." Acta Phytopathologica Sinica. 34(1): 69-74.
- Perello, A., Simon, M.R., Arambarri, A.M. and Cordo, C.A. 2001. "Greenhouse screening of the saprophytic resident microflora for control of leaf spots of wheat (*Triticum aestivum*)". Phytoparasitica. 29(4) : 341 – 351.
- Peyghami, E. 2001. "Antagonistic effects of several isolates of *Trichoderma* on fungi causing onion root rot, East Azarbaijan Province". Iranian-Journal-of-Agricultural-Sciences. 32(4) ; 747-755.
- Phowiwat, W. and Soyong, K. 2001. "The effect of *Penicillium notatum* on plant growth". Fungal Diversity. 8 : 143-148.
- Ramannujam, B., Nambiar, K.K.N. and Iyer, R. 2002. "Hyphal interaction studied between *Thielaviopsis paradoxa* and its antagonistic fungi." Indian Phytopathology. 55(4):516-518.
- Randhawa, M. and Munshi, G.D. 2003. "Effect of different culture media on the development and sporulation of *Phomopsis sojae* and *Colletotrichum truncatum*. Plant Disease Research Ludhiana. 18(1) :60 – 62.
- Roiger, D.J. and Jeffers, S.N. 1991. "Evaluation of *Trichoderma* spp. for Biological Control of *Phytophthora* Crown and Root Rot of Apple Seedlings." Phytopathology. 81 : 910-917.
- Saha, A., Mandal, P., Saha, D. and Dasgupta, S. 2004. "Control of diplodia disease of tea (*Camellia sinensis*) caused by *Lasiodiplodia theobromae* by biotic inducers

- and botanicals". 48. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Sandler, H.A., Timmer, L.W., Graham, J.H. and Zitko, S.E. 1989. "Effect of fungicide applications of *Phytophthora parasitica* and on feeder root densities and fruit yields of citrus trees". *Plant Disease*. 73 : 902 – 906.
- Shepherd, C.H. 1995. "A Canadian Isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* as a Potential Biological Control Agent for St. John's Wort (*Hapericum perforatum*) in Australia". *Plant Protection Quarterly*. 10(4) : 148-151.
- Shternshis, M., Tomilova, O. and Shpatova, T. 2004. "Evaluation of Ketomium-mycofungicideon Siberian Isolates of Phytopathogenic Fungi". 272-275. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Sodsa-art, P. and Soyong, K. 1999. "Biological control of black pepper root and basal stem rot in the field". 145 – 147 in Proceeding Symposium on Biological Control in the Tropics .MARDT Training Centre : Malaysia. .
- Sohi, H.S., Aulakh, K.S. and Randhawa, H.S. 1988. "Control of seed-borne fungi of cotton by *Chaetomium globosum* and *Epicoccum purpurascens*". *Indian J. of Ecology*. 15(1):111-113.
- Soyong, K. and Quimio, T.H. 1988. "Biological Control of The Rice Blast Disease by Seed Coating with *Chaetomium*." *Philippine Phytopathology*. 24(1-2) : 60.
- Soyong, K. and Quimio, T.H. 1989. "Antagonisim of *Chaetomium globosum* to The Rice Blast Pathogen, *Pyricularia oryzae*." *Kasetsart J.(Natural Science)*. 23:198-203.
- Soyong, K. 1992a. "Biological Control of Rice Blast Diseases by Seed Coating with Antagonistic Fungi." *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 14(1) : 59-65.
- Soyong, K. 1992b. "Biological Control of Tomato Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by *Chaetomium cupreum*." *Kasetsart J.(Natural Science)*. 26 : 310-313.
- Soyong, K. 1992c. "Antagonist of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*." *J. Plant protection in the Tropics*. 9(31) : 17- 23.

- Soytong, K. 1993. "Biological control of plants pathogen using *Chaetomium* spp." *Mycology in Thailand*. Kasetsart University, Thailand, 3 March 1993. 10 p.
- Soytong, K. 1995. *Chaetomium* as a biocontrol agent plant pathogens. Proceeding of The XII International Plant Protection Congress. The Hague - The Netherland (2-7 July).
- Soytong, K. and Soyong, K. 1997. "*Chaetomium* as a New Broad. Spectrum Mycofungicide Biopesticide: Toxicity, Safety, Development and Proper Use Proceeding". Proceeding of First International Symposium on Biopesticide. Phisanulok : Naresuan University.
- Soytong, K., Usuwān, P., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V. and Isobe, M. 1999a. "Integrated Biological Control of Phytophthora Rot of Sweet Orange Using Mycofungicides in Thailand." *Proceedings of The 5th International Conference on Plant Protection in The Tropics*. Malaysia, 15-18 March, 1999. 329-331 pp.
- Soytong, K., Jindawang, N. and Qian, Y. 1999b. "Evaluation of Biological Control for *Chaetomium*, of Fusarium Wilt of Tomato in P.R.China." *Proceedings of The 5th International Conference on Plant Protection in The Tropics*. Malaysia, 15-18 March, 1999. 484-487 pp.
- Soytong, K. and Jitkasemsuk, S. 2000. First Report of *Thielaviopsis paradoxa* causing fruit rot on Sala (*Salacca edulis*) in Thailand. *Plant Disease*. 85(2): 230.
- Soytong, K., Srinon, W. and Samarak, T. 2000. "Biological Control of Thielaviopsis Bud Rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in The Field." *Proceeding of Asian Mycological Congress 2000 Incorporating with The 2nd Asia Pacific Mycological Conference on Biodiversity and Biotechnology*, Hong Kong SAR, China, 9-13 July, 2000. pp. 47. And *Proceeding of The International Conference on Microbial Against Fungi*. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Soytong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapan, V. and Isobe, M. 2001. "Application of *Chaetomium* Species as New Broad Spectrum Biological Fungicide for Plant Diseases Control." *J. Fungal Diversity*. 7: 1-15.
- Srinon, W. and Soyong, K. 2004. "Effect of Antagonists Fungi on Population dynamic of plant pathogens in soil in grape field ". 215-220. in *Proc. of the 1st KMITL*

- International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Srinon, W., Soyong, K., Kanokmedhakul, S. and Kanokmedhakul, K. 2004. "Effect of antagonists fungi against plant pathogens". 221-225. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Suresh, C.K. and Rai, P.V. 1992. "Antibiosis of *Penicillium purpurescens* towards *Pseudomonas solanacearum*, incitant of bacterial wilt of tomato." Indian Phytopathology. 45(1):99-102.
- Suseelendra, D. and Schlosser, E. 1999. "Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma*." Indian Phytopathology. 52(1) : 47-50.
- Suwannapong, S and Soyong, K. 2004. "Preliminary Study on Microbial Elicitor to Induce Plant Immunity Against Anthracnose of Tangerine". 248-250. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Thanh, N.T., Quyet, N.T., Phuong, N.H., Nga, N.T., Dung, N.V., Dong, L.S., Hong, L.T.A. and Soyong, K. 2004. "Application of Ketomium-Biofungicide to Control Plant Diseases in Vietnam". 37-41. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. V2. Bangkok, KMITL.
- Tomescu, A., Paroussi, G., Voyiatzis, D and Paroussis, E. 2002 "Chemical and cultural control of pathogenic fungi in tomato crops". Acta-Horticulturae. 579, 521-526.
- Treetong, W., Soyong, K., Kanokmedhakul, S. and Suksamram, A. 2000. "Integrated Biological Control of Root and Stem Rot of *Citrus reticulata* Blanco cv. Shokun." 34 in Proceeding of The International Conference Tropical Agriculture Technology for Better Health and Environment. Nakhon Pathom : The Central Laboratory & Greenhouse Complex, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus.
- Usuwan, P., Soyong, K., Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V and Isobe, M. 1999. "Intergrated biological control of Phytophthora root rot sweet orange using mycofungicide in Thailand". 329 – 331 in Proc. of 5th

International conference on Plant Protection in the Tropics. Kuala Lumpur, Malasia.

- Viswanathan, R., Sundar, A.R. and Premkumari, S.M. 2004. "Mycolytic effect of extracellular enzymes of antagonistic microbes to *Colletotrichum falcatum*, red rot pathogen of sugarcane." *World-Journal-of-Microbiology-and-Biotechnology*.19(9):953-959. .
- Windhum, G.L., Windhum M.T. and Williams, W.P. 1989. "Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction." *Plant Disease*. 73(4):493-495.
- Xu, T., Zhong, J.P. and Li, D.B. 1993. "Antagonism of *Trichoderma harzianum* T82 and *Trichoderma* sp.NF9 against soil borne fungus pathogens." *Phytopathology*. 23(1) :63-67.
- Xu, T. and Liu, L.H. 2002. "Chitinase of *Trichoderma* spp. and their antagonism against phytopathogenic fungi." *Acta Phytopathologica Sinica*. 32(2):97-102.
- Yamaji, K., Fukushi, Y., Hashidoko, Y., Yoshida, T. and Tahara, S. 2001. "Penicillium fungi from *Picea glehnii* seeds protect the seedlings from damping-off". *New Phytologist*. 152(3) : 521 – 531.
- Yang, X., Madden, L.V., Reichard, D.L., Wilson, L.L. and Ellis, M.A. 1992. "Splash dispersal dispersal of *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* from strawberry fruit by single drop impactions". *Phytopathology*. 82(-) : 332 – 340.
- Yedidia, I., Shores, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y. and Chet, I. 2003. "Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins." *Applied and Environmental Microbiology*. 69(12): 7343-7353.

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานที่ลงตีพิมพ์เผยแพร่

- (1.) เกษม สร้อยทอง และ สันติภาพ นวลจำรัส. 2545. "การทดสอบประสิทธิภาพของ *Beauveria bassiana* (Balsano) Vuillemin, ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) และหนอนใยผัก *Plutella xylostera* L. (LEPIDOPTERA:YAPONOMEUTIDAE)" หน้า 690. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. กรุงเทพมหานคร : ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.
- (2.) สันติภาพ นวลจำรัส และ เกษม สร้อยทอง. 2545. "การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, น้ำมันสะเดาและน้ำมันรำข้าว ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)" หน้า 691. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. กรุงเทพมหานคร : ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.
- (3.) Nuanjamrat, S. and Soyong, K. 2004. "Efficacy *Beauveria bassiana* (Balsano) Vuillemin, to Control Common Cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) and Diamondback Moth, *Plutella xylostera* L. (LEPIDOPTERA:YAPONOMEUTIDAE)." 251-253. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand.
- (4.) Nuanjamrat, S. and Soyong, K. 2004. "Efficacy of Microbial Crude Extract Mixture to Control *Pythium* sp. Causing Pummelo Root Rot." 254-257. in Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand.



บทคัดย่อ

EXTENDED ABSTRACTS

การประชุมวิชาการ

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28

24-26 ตุลาคม 2545

ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ

28th Congress on Science and Technology of Thailand

24-26 October 2002

Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok



สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์
THE SCIENCE SOCIETY OF THAILAND UNDER THE PATRONAGE
OF HIS MAJESTY THE KING



คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
FACULTY OF APPLIED SCIENCE,
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY NORTH BANGKOK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Beauveria bassiana* (Balsano) Vuillemin, ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) และหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE)
 EFFICACY TEST OF *Beauveria bassiana* (Balsano) Vuillemin, TO CONTROL COMMON CUTWORM, *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) AND DIAMONDBACK MOTH *Plutella xylostella* L. (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE)

เกษม สร้อยทอง* และ สันติภาพ นวนจามรัส

Kasem Soyong*, Santiphap Nuanjamrat

*Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand; e-mail address: Kasem_soyong@excite.com

บทคัดย่อ: จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* ทั้ง 4 isolate (B01, B02, B03 และ B04) ที่แยกได้จากหนอนกระทู้ในธรรมชาติ นำมาทดสอบการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ระยะที่ 2-3 และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ระยะที่ 2 โดยทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ให้ conidia suspension ที่ความเข้มข้น 1×10^7 conidia/ml ละลายน้ำ 20 ลิตร ทำการพ่นทุก 3 วัน หลังทำการพ่นในหนอนกระทู้และหนอนใยผัก พบว่า B01 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนสูงสุดเท่ากับ 40 และ 40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ B03 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ลำดับถัดมา วิธีการที่ใช้น้ำกลั่นบริสุทธิ์มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ คือนำ liquid media ของ *B. bassiana* ทั้ง 4 isolates ทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดหนอน โดยใช้ในอัตรา 500 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ทำการพ่นทุก 3 วัน หลังทำการพ่นพบว่า B03 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้และหนอนใยผักสูงสุดเท่ากับ 55 และ 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ B01 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 45 และ 70 เปอร์เซ็นต์ลำดับถัดมา และวิธีการที่ใช้น้ำกลั่นบริสุทธิ์มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 5 และ 0 เปอร์เซ็นต์

Abstract: Efficacy test of *B. bassiana* 4 natural isolates (B01, B02, B03 and B04) were tested for biocide activity on common cutworm, *S. litura* and diamondback moth, *P. xylostella*. Spraying conidia suspension 1×10^7 conidia/ml to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* and 2nd instar larvae of *P. xylostella* every 72 hours and observed on insect behavior. Results showed that application of B01 revealed that the highest per cent mortality of larvae of *S. litura* and larvae of *P. xylostella* was 40 and 40 % followed by applying the B03 which was 20 and 30 % mortality. The *B. bassiana* was efficacy test to control *S. litura* and *P. xylostella*. The another experiment showed that spraying liquid media with *B. bassiana* (500 ml / 20 liters of water) to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* and 2nd instar larvae of *P. xylostella* every 72 hours was done in a cage. Results showed that the applying B03 showed the highest mortality of larvae of *S. litura* and larvae of *P. xylostella* of 55 and 90% mortality, followed by B01 was 45 and 70 % mortality.

Methodology: Common cutworm and diamondback moth larvae were obtained from a laboratory colony (supplemented annually by field collection) of maintained on chinese kale foliage (*Brassica oleracea* var. *albograbu*). Four isolates of *B. bassiana* was isolated from common cutworm. Experiment 1 was done by treated the conidial suspensions 1×10^7 conidia/ml (3) with *B. bassiana* 4 isolates (B01, B02, B03 and B04). Control was treated with distilled water. Spraying the conidia suspension to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* and 2nd instar larvae of *P. xylostella* every 72 hours. For all spray application, we used a laboratory chamber. After the treated conidia suspensions were removed and replaced with fresh untreated foliage. Laval mortality was recorded daily and foliage was replaced when required. Data were corrected for control mortality. Experiment 2 was done by treated liquid media with *B. bassiana* (500 ml / 20 liters of water) with the same as experiment 1.

Results, Discussion and Conclusion: The effects of the conidia suspension and the liquid media of *B. bassiana* on the insecticidal activities of *B. bassiana* 4 isolates (B01, B02, B03 and B04) were investigated and determined in laboratory. The resulted conidia suspension of B01 great to control by larvae of *S. litura* and larvae of *P. xylostella* were 40 and 40 % mortality, respectively. Mortality of *S. litura* occurred first at days 8. Mortality of *P. xylostella* occurred first by at days 1 and increased at days 2 and reached at days 3 after larval infection. Conidia suspension of *B. bassiana* showed the effective for prepupal of *S. litura* and larvae of *P. xylostella*. Liquid media of B04 gave a good control larvae of *S. litura* and larvae of *P. xylostella* which were 55 and 90 % mortality, respectively. Mortality of *S. litura* occurred first by at days 2 and increased at days 4 and reached at days 6-9 after larval infection. Mortality of *P. xylostella* occurred first by at days 2 and increased at days 4 and reached at days 5 after larval infection. The liquid media of *B. bassiana* showed the effective for prepupal and larvae of *S. litura* (1) and larvae of *P. xylostella* (2). Larvae of *S. litura* were resistant to infection of *B. bassiana* than larvae of *P. xylostella*.

References: (1) Jayanthi, P.D. and Padmavathama, K. (1996) Indian Journal of Plant Protection. 24(1-2). 102-109.
 (2) Masuda, T. (1998) Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 42(2). 387-391.
 (3) Masuda, T. (2000) Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 44(3). 177-182.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Spodoptera litura*, *P. xylostella*, prepupal, larvae

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, น้ำมันสะเดาและน้ำมันรำข้าว ในการป้องกันกำจัดหนอน
กระชู้พัก *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) 135

EFFICACY TEST OF *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, NEEM OIL AND RICE BRAN OIL*TO CONTROL
COMMON CUTWORM, *Spodoptera litura* (F.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)

สันติภาพ นวลจำรัส^{1*}, เกษม สร้อยทอง¹, สมเดช กนกมณธกุล² และ ลูบอบ โคลัมเบต³

Satitphap Nuanjamrat^{1*}, Kasem Soyong¹, Somdej Kanokmedhakul², Lyubov Kolambet³

¹Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand; ²Department of Chaemistry, Faculty of Science, Khon Khaen University, Khon
Khaen 40002, Thailand; ³State Reseach of Applied Microbiology, Obolensk, Russia; e-mail address: Kasem_soyong@
excite.com

บทคัดย่อ: จากการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* น้ำมันสะเดาและน้ำมันรำข้าว ในการป้องกันกำจัดหนอน
กระชู้พัก *Spodoptera litura* วัชที่ 2-3 หลังจากการพ่นสารผลึกวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 วัน ในทุกวิธีการ พบว่า การใส่
Bt.(Lepidopceideชนิดผง) อัตรา 50 และ 70 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ การใส่
Bt.(Lepidopceideชนิดผง)อัตรา 100 กรัม และน้ำมันสะเดาอัตรา 100 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์
ส่วน Bt.(Lepidopceideชนิดผง)อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, น้ำมันรำ F₃ อัตรา100 ซีซี, น้ำมันรำ F₁ อัตรา100 ซีซี และน้ำมันรำ F₂ อัตรา
100 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 40, 30, 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในการทดสอบเปรียบเทียบซึ่งพ่นด้วยน้ำ
กลั่นจนที่มียาเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบพบว่า Bt. มีประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าหนอนกระชู้พัก ดังนั้น
การทดลองครั้งที่สองจึงทำการทดสอบด้วย Bt. ทั้งสามชนิด จากการพ่น Bt. ทั้งสามชนิดวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 8 วัน ในทุกวิธีการ พบว่า การ
ใส่ living cell ของBt.(Lepidopceide)อัตรา 21.95 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ
การใส่ living cell ของBt.(แยกจากหนอนกระชู้พักที่ตายตามธรรมชาติ)อัตรา 155 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ ผลึกพิษBt.(Lepidopceideชนิด
ผง)อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากับ 50 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Abstract: Efficacy test of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, neem oil and rice bran oil were tested for biocide activity
on common cutworm, *Spodoptera litura*. Spraying the products to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* every 24 hours
in 6 days and observed on insect behavior. Results showed that the application of Bt. at the rate of 50 and 70 g/20 liters of
water revealed that the highest of per cent mortality of larvae of *S. litura* was 70 % followed by applying at the rate of Bt.
100 g, neem oil 100 cc, Bt 30 g, rice bran oil F₃, rice bran oil F₁, rice bran oil F₂, 100 cc/20 liters of water and control
(water) which were 60, 60, 40, 30, 20, 10 and 0 % mortality, respectively. The Bt. was efficacy test to control *S. litura*.
The another experiment showed that spraying products to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* every 24 hours in 8 days
Results showed that the application living cell of Bt. at the rate of 21.95 g/20 liters of water showed the highest mortality
of larvae of *S. litura* of 90 % , followed by which fresh isolate of Bt. from the infected larvae, applied at the rate 155 g/20
liters of water and Bt (Lepidopceide, powder) at the rate of 50 g/20 liters of water were 50 and 30 % mortality, respectively.

Methodology: Common cutworm larvae were obtained from a laboratory colony (supplemented annually by field
collection) maintained on chinese kale foliage (*Brassica oleracea* var. *albagraba*). Experiment 1 were treated with four
Bt (Lepidopceide, powder) concentrations (30, 50, 70 and 100 g/20 liters of water), neem oil (100 cc/20 liters of water) and
three formulations of rice bran oil (F₁, F₂ and F₃; 100 cc/20 liters of water). Control were treated with distilled water.
Spraying the products to control 2nd-3rd instar larvae of *S. litura* every 24 hours. For all application, we used a laboratory
chamber. The treated products were removed and replaced with fresh untreated foliage. Laval mortality was recorded
daily for 6 days and foliage was replaced when required. Data were corrected for the mortality. Experiment 2 were treated
with Bt (Lepidopceide, powder, 50 g/20 liters of water) living cell of Bt (Lepidopceide, 21.95 g/20 liters of water) and living
cell of Bt from the infected larvae (155 g/20 liters of water). Method of experiment 2 as same procedure as the
experiment 1. Laval mortality was recorded daily for 8 days

Results, Discussion and Conclusion: Application of Bt. 50 and 70 g/20 liters of water resulted in 70% mortality after
spray 6 days. Application of Bt. greated mortality than neem oil and rice bran oil(3). Mortality occurred first at days 3,
increased at days 5 and reached at days 6 after larval infection. The mortality was greater at high concentration of Bt(1).
The alternate application of Bt. and neem oil significantly reduced the larvae compared to the rice bran oil and untreated
control. The another experiment showed application of living cell of Bt. at the rate of 21.95 g/20 liters of water showed
the highest of % mortality of larvae of *S. litura* of 90 % mortality after spray 8 days(2). Application living cell of Bt.
significantly reduced the larvae compared to the Bt (Lepidopceide) and living cell of Bt. from the infected larvae. Mortality
occurred first at days 4, increased at days 6-7 and reached at days 8 after larval infection.

References: (1) Jayanthi, P.D. and Padmavathama, K. (1997) Pesticide Research Journal. 9(1). 20-24.

(2) Li, F., Chen, J.H. and Huang, H. T. (1997) Journal of Fujian Agricultural University. 26(1) 73-76.

(3) Parthibang, M. and Ananthan, G. (1998) Insect Enviroment. 3(4) 97-98.

Keywords: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Spodoptera litura*.

**PROCEEDINGS OF THE FIRST KMITL
INTERNATIONAL CONFERENCE
ON INTEGRATION OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT
AUGUST 25-26, 2004**



VOLUME 2

SESSION: FOOD AND AGRICULTURAL TECHNOLOGY

Editors

**Kevin D. Hyde
Kasem Soyong**

**Organized by
KMITL, Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsano) Vuillemin, to Control Common Cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera:Noctuidae) and Diamondback Moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera:Yponometidae)

Santiphap Nuanjamrat¹ and Kasem Soyong¹

¹King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Chalongkrung Road, Bangkok 10520, Thailand
E-mail : kasem_soyong@excite.com

ABSTRACT

Efficacy tests of *Beauveria bassiana* from 4 local isolates namely B01, B02, B03 and B04 were tested to control for the common cutworm, *Spodoptera litura* and diamondback moth, *Plutella xylostella*. Results showed that spraying the conidia suspension at the concentration of 1×10^7 conidia/ml. to control the 2nd and the 3rd instar larvae of *S. litura* and the 2nd larvae of *P. xylostella* for 72 hours observation on insect behavior. It has showed that the application of isolate B01 gave the highest per cent mortality of larvae of *S. litura* and larvae of *P. xylostella* which were at the same level of 40 % and followed by applying the isolate B03 which were 20 and 30 % mortality, respectively. Moreover, *B. bassiana* gave the highest efficacy test to control *S. litura* and *P. xylostella*. The another experiment showed that separately spraying each isolate of liquid culture with *B. bassiana* at 500 ml./20 liters of water to control the 2nd and the 3rd instar larvae of *S. litura* and the 2nd larvae of *P. xylostella* for 72 hours in a cage. It has showed that the isolate B03 gave the highest per cent mortality to the larvae of *S. litura* and the larvae of *P. xylostella* which were 55 and 90 % mortality, respectively and followed by the isolate B01 which were 45 and 70% mortality, respectively. This preliminary study needs to do further research on finding the control mechanisms and others to improve the strain activity.

Keywords

Beauveria bassiana., *Spodoptera litura*, *Plutella xylostella*

1. INTRODUCTION

Common cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera:Noctuidae) and diamondback moth *Plutella xylostella* L (Lepidoptera:Yponometidae) are important insect pests of vegetables in the

fields and greenhouse. The common cutworm and diamondback moth are expected to continue causing wide spread and significant damaged in many areas of the world. There are many researchers has increasing interested to do research for environmentally friendly and sustainable methods of control. So, biological control research is also directed toward insect parasitoids and predators. Several entomopathogenic fungi have been recognized as important biological control agents of insect pests. The entomopathogenic fungus, such as *B. bassiana* has been extensively studied and used to control of many important insects on various crops around the world. Reports on several strains of *B. bassiana* were tested to control *S. litura* under laboratory conditions that some strain of *B. bassiana* showed the maximum mean mortality for *S. litura* as 76.66%⁴. Some report indicated that *B. bassiana* was significantly moretoxic to *P. xylostella* than abametin and endosulfan¹. The object of our study was to screen and evaluate the transmission of *B. bassiana* within common cutworm and diamondback moth by observing mortality.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Sources of *Beauveria bassiana* isolate.

B. bassiana isolates B01, B02, B03 and B04 were isolated from natural infested larvae of tested insect pests in Thailand (Fig. 1)

2.2 Conidial Suspension.

Cultures of 4 local isolates were maintained on potato dextrose agar (PDA), pH of 6.8, at 25 °C. The 21 days old culture of each isolate was scraped with a sterile water to harvest a mixture of conidia. The conidia concentration was ascertained with a haemocytometer under a compound microscope. A series of conidia suspension ranging for 10^7 conidia/ml³ has prepared for each isolate.

2.3 Liquid Culture.

Cultures of 4 local isolates were maintained on grown on PDA. The 14 days old culture of each isolate was then taken from each plate with a disk culture of 5 mm. Diameter, and individually put into flasks filled with 150 ml. of potato dextrose broth (PDB) adjusting pH of 6.7 and incubated in a shaker at 37 °C., for 21 days before used. of incubate to used .

2.4 Larvae's Samples

The common cutworm and diamondback moth larvae were used in the experiments which collected from the fields planted to Chinese kale (*Brassiana oleracae* var. *albagrada*) in Ladkrabang District, Bangkok.

2.5 Efficacy Tests

The first experimental was done by using Completely Randomized Design. The conidia suspension of 1×10^7 conidia/ml. of *B. bassiana* from each isolates, B01, B02, B03 and B04 were prepared as each treatment by adjusting with Haemacytometer. Control was treated with sterilized distilled water. The conidia suspension of each isolate was inoculated by spraying to the 2nd and the 3rd instar larvae of *S. litura* and the 2nd larvae of *P. xylostella* and observed for 72 hours. The inoculated larvae were separately placed onto the leaf of Chinese kale and kept in clean plastic box moist chamber in each treatment. The second experiment was also done in the same as the first one, but the treatment was prepared as in liquid culture of PDB with separately each isolate of *B. bassiana*. The application rate was used as 500 ml./ 20 liters of sterile distilled water. The experiments were repeated for four times. The data collected as the dead larvae and calculated as mortality percentage. Mean comparison was analyzed by Duncan's New Multiple Range Test at $P= 0.05$ and $P=0.01$.

3. RESULTS

The first experiment showed that after spraying the conidia suspension of each isolate of *B. bassiana* to the 2nd and the 3rd instar larvae of *S. litura* and the 2nd larvae of *P. xylostella* and observed for 72 hours resulted to the isolate B01 that gave the greatest to control the larvae of *S. litura* of 40 % mortality, and followed by the isolates B03 and B04 which were 20 and 10 % mortality, respectively which significantly different to B02 and the non-treated one. But for the isolate B02 has not significant different when compared with the non-treatone (0% mortality). The inoculated the tested larvae of *P. xylostella*

with each isolate of *B. bassiana* showed that the isolate B01 also gave the greatest to control *P. xylostella* of 40 % mortality, and followed by B03, B04, and B02 which were 30, 20 and 20 mortality, respectively which significantly different ($P<0.01$) when compared to the non-treated larvae(0 % mortality) as shown in Table 1).

The second experiment was inoculated with the liquid culture of each isolate of *B. bassiana* to the 2nd and the 3rd instar larvae of *S. litura* and the 2nd larvae of *P. xylostella* and observed for 72 hours revealed that the isolate B03 had the greatest control to the larvae of *S. litura* of 55 % mortality, and followed by B01 . B04 and B02 which were 45, 35, 15 % mortality, respectively which differently significant when compared to the non-treated one (only 5 % mortality) as seen in Fig. 2. As a result, it was also shown that the liquid culture of *B. bassiana* of isolates B02 and B03 gave the greatest control to the larvae of *P. xylostella* which the same level of 90 % mortality, and followed by isolates B01 and B02 which were 70 and 60 % mortality, respectively where the non-treated one was 0 % mortality as shown in Fig.3 and Table 1.

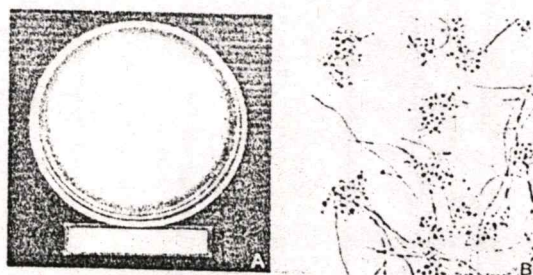


Figure 1. *Beauveria bassiana* isolate B03 on PDA for 28 days (A) and hypha and conidia, 40X (B)

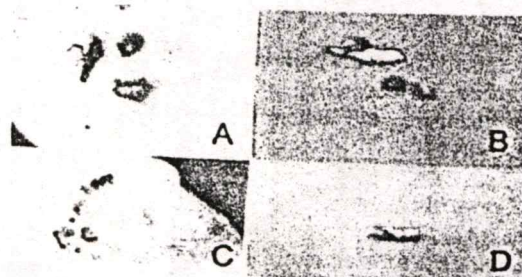


Figure 2. Dead larvae of *Spodoptera litura* after spraying the liquid culture of *Beauveria bassiana* isolate B01 (A), isolate B02 (B), isolate B03 (C) and isolate B04 (D)

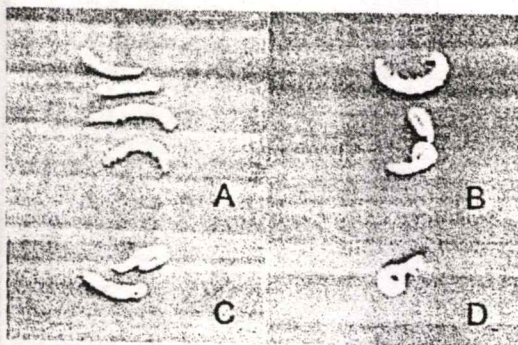


Figure 3. Dead larvae of *Plutella xylostella*, after spraying the liquid media of *Beauveria bassiana* B01 (A) isolate B02 (B), isolate B03 (C) and isolate B04 (D)

Table 1. Comparison of mortality percentages of *Spodoptera litura* and *Plutella xylostella* after inoculation of *Beauveria bassiana*

Isolates	Mean % mortality ¹			
	conidia suspension		liquid culture	
	<i>S.litura</i>	<i>P.xylostella</i>	<i>S.litura</i>	<i>P.xylostella</i>
Control	0c ²	0c	5b	0c
B01	40a	40a	45a	70b
B02	0c	20b	15b	90a
B03	20b	30ab	55a	90a
B04	10bc	20b	35a	60b

¹Percentage of mortality was assessed on the formula: $n1/n2 \times 100$; n1= numbers of dead larvae in treatment, n2= numbers of all larvae in treatment

²Average of four replications. Means follow by a common letter are not significantly different by DMRT at P=0.05 and P=0.01.

4. DISCUSSION

The effects of conidia suspension and liquid culture of each isolate of *B. bassiana* revealed that the different isolates gave individually of insecticidal activity to the tested larvae of insect pests. However, in this study the *B. bassiana* isolates B01, B02, B03 and B04 were investigated and preliminary screening to find the effective isolate of entomofungus against insect pests in laboratory. Our research findings showed that the conidia suspension of B01 gave greatest control to the larvae of *S. litura* and *P. xylostella*. It observed that the mortality of *S. litura* appeared firstly at day of 8 and the mortality of *P. xylostella* appeared at the first day (24 hours), then increased in mortality at the second and third days after larvae infection. The conidia suspension of *B. bassiana* also showed the effective for prepupal of *S. litura* and *P. xylostella*. It was observed that liquid culture of isolate B03 gave a good control larvae of *S. litura* and *P. xylostella* which were 55 and 90 %

mortality, respectively. Similar results reported by Yoon et al.⁵ that the mortality of *S. litura* occurred at second day and increased at the fourth day, then reached at days 6-9 after larvae infection of *B. bassiana*. In this study, the higher mortality percentage was observed in early instars compared with the later instars which also corresponded with that reported by Jayanthi and Padmavathamma². Mortality of *P. xylostella* occurred first at days 2 and increased at days 4 and reached at days 5 after larvae infection.

5. REFERENCES

1. Elzen, G.W., James, R.R. (2002). Responses *Plutella xylostella* and *Coleomegilla maculata* to selected insecticides bioassay. *Southwestern Entomologist*. 27(2):149-153.
2. Jayanthi, P.D. and Padmavathamma, K. (1996). Effect of microbial agents on different developmental stages of tobacco caterpillar *Spodoptera litura* (Fabricius). *Indian-Journal-of-Plant-Protection*. 24: 1-2.
3. Masuda, T. (1998). Microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella* by entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*. I. Laboratory studies on pathogenicity of *Beauveria bassiana* and field experiment. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 42(2):51-58.
4. Ramanujam, B., Prasad, R.D., Narayanan, K., Tandon, P.L., Ballal, C.R., Jalali, S.K., Rabinda, R.J. (2003). *Laboratory evaluation of four entomopathogenic fungi on Helicoverpa armigera (Hubner) and Spodoptera litura (Fabricius)*. Biological control of lepidopteran pest. Proceeding of The Symposium of Biological Control of Lepidopteran Pests. Bangalore, India.
5. Yoon, C.S., Sung, G.H., Park, H.S., Lee, S.G. and Lee, J.O. (1999). Potential of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* strain CS-1 as a biological control agent of *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Yponomeutidae). *Journal-of-Applied-Entomology*. 123(7):423-425.

Efficacy of Microbial Crude Extract Mixture to Control *Pythium* sp. Causing Pummelo Root Rot

Santiphap Nuanjamrat¹ and Kasem Soyong¹

¹King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Chalongkrung Road, Bangkok 10520, Thailand
E-mail : kusem_soyong@excite.com

ABSTRACT

Root rot of pummelo (*Citrus maxima*) was found which the causal agent isolated from the infected plants identified as *Pythium* sp. All isolates had been proved for pathogenicity tests. It was found that *Pythium* sp. isolate PP05 showed the most virulence isolate and gave the highest disease incidence. Microbial Crude extract Mixture of *Chaetomium cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *Trichoderma hamatum* PC02 and *Penicillium chrysogenum* PC was tested to control *Pythium* sp. isolate PP05 in vitro. Result showed that the tested microbial crude extract mixture could be significantly inhibited the tested pathogen (*Pythium* sp. isolate PP05). Microbial crude extract mixture at concentration of 2,500 p.p.m. showed the highest inhibition of radial growth (37 %) and significantly reduced the sporangia and oospores of 77 and 95 %, respectively when compared with the non-treated control.

Keywords

Pythium sp., Pummelo, Microbial crude extract media mixture

1. INTRODUCTION

Pummelo (*Citrus maxima*) is one of the most economically important fruit crops in Thailand which has been exported to several countries. Pummelo's fruits production has often involved in high input of chemical fertilizers and chemical pesticides that subjected to significant losses of yield and quality due to several insect pests and diseases in field.

Pummelo root rot caused by *Pythium* sp., is a major disease of Pummelo. The Pummelo trees infected with *Pythium* sp. usually die before the orchard reaches full productivity. *Pythium* sp. become seriously soil-borne disease of Pummelo in the recent year. The occurrence of root rot showed slow decline of plants that cause the loss in yield and quality. The pathogen attacks to root system, then the reproduction in

root volume can decrease the plant's ability to obtain nutrients and water from the soil.

The application of chemical fungicides are the most common methods of controlling root rot. Chemical fungicides, although effective, may not be economically eliminated the pathogen in all situations due to the high cost and fungicide resistant that may become a major factor, then could not control the root rot. Biological control research is directed toward microbial antagonists to reduce the pathogen inoculum and decreasing disease incidence. With this, several antagonistic fungi have been recognized as important biological control agents against root rot diseases. There are reported that the antagonist fungi, *Ch. globosum* and *Ch. cupreum* have been extensively studied and successfully used to control the root rot diseases of citrus, black pepper, strawberry and decreasing the damping-off disease of sugar beet^{6, 3}. Moreover, many research findings have been reported on *Trichoderma* spp. Against several plant pathogens, e.g. *T. hamatum* and *T. harzianum* use for control root rot disease orange and pepper^{1, 5, 7}. The research objective of our study was to find the proper concentration of microbial crude extract mixture to inhibit the growth of *Pythium* sp. in vitro.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Isolation.

Pythium sp. was isolated from infected roots of Pummelo cultivar Tongdee in Ladkrabang District, Bangkok. All isolates were maintained on potato dextrose agar (PDA) at 25 °C.

2.2 Inoculum.

Pythium isolate was stored on PDA slants at 5 °C and then transferred to PDA (dia. 9 cm.) Petri dishes. The inoculum was prepared by placing mycelium agar plugs of the fungus onto PDA in Petri dishes., then incubated at 25 °C for 7 days. Sporangia suspension were prepared by flooding the culture on the Petri dishes with a solution of

10 ml. of deionized water, and incubated for 24 h at 7-10 °C. The inoculum concentration was determined using a haemocytometer and adjusted to 2.8×10^6 sporangia/ml. ⁸, and maintained on ice to preserve the inoculum viability until used.

2.3 Pathogenicity Tests.

All isolates were tested to screened the most virulent isolate on the host plants. The host plants were grown in 30 cm. diameter of plastic pots in a sand-compost-soil mixture. The plants were grown in a greenhouse at 32 °C. Plants were irrigated as needed with water only. Fertilizer, 16-16-16 (N P K) was applied every 2 weeks. Plants were removed from the soil and washed thoroughly to remove adhering soil and bare roots before inoculation. Approximately 5 mm of the root end was cut prior to inoculation by dipping the roots for 5 min in a 2.8×10^6 sporangia of *Pythium* sp. per ml. of each isolates and transplanted into 30 cm. diameter plastic pots containing sand-compost-soil sterile mixture. Non-inoculated plants served as control. After inoculation, the plants were placed in the greenhouse for observation. The data was recorded for 60 days, and the disease percentage was calculated. Host response were then scored visually to obtain the average percentage of plants covered by symptoms. Disease Rating from 1 to 5 was used, where 1= no visible symptoms, 2= 1-25% of symptoms, 3= 26-50% of symptoms, 4= 51-75% of symptoms and 5= 75-100% of symptoms. Data were analyzed using Randomized Complete Block Design (RCBD). The experiment was repeated 5 times.

2.4 Growth Inhibition of the Pathogen

Microbial crude extract mixture was prepared from the crude extract of *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 and *P. chrysogenum* PC. Microbial crude extract mixture was prepared in different concentrations as follows: 0, 500, 1000, 1500, 2000, and 2500 ppm. in PDA and then sterilization at 121 °C, 15 lbs. for 20 min. The screened virulent isolates of *Pythium* sp. was grow on PDA for 2 days at 25 °C, then cut from actively growing colony margins and placed in the center of Petri dish in each concentration and incubated at room temperature (25 °C) for 4 days. Data were collected as follows: colony diameter(cm), number of sporangia and oospore, then analyzed using RCBD and computed to compare the treatment by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $P=0.01$ and $P=0.05$. The experiment was repeated four times.

3. RESULTS

3.1 Isolation.

Five isolates were collected from root rot of Pummelo var. Tongdee, and identified as *Pythium* sp. as seen in Figure 1.

3.2 Pathogenicity Tests.

All isolates of *Pythium* sp. used in this study were proved to be pathogenic to Pummelo var Tongdee. The inoculated plants showed the root rot symptom within 4 weeks after inoculation. Those symptoms were similar in root rot with the host plants become yellow leaves, sometime dieback of twigs and leaf drop. No root rot symptoms showed in non-inoculated plants. Result showed that the *Pythium* sp. isolate PP05 has showed higher disease incidence than the other isolates (PP01, PP02, PP03 and PP04) as seen in Figure 2.

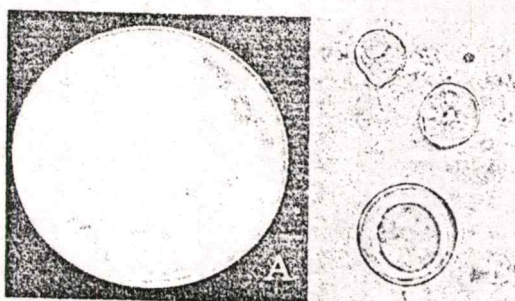


Figure 1. *Pythium* sp. isolate PP05 causing Root Rot of Pummelo var Tongdee (A) culture on PDA at 7 days (B) Sporangia, 40x. and (C) Oospore, 40x

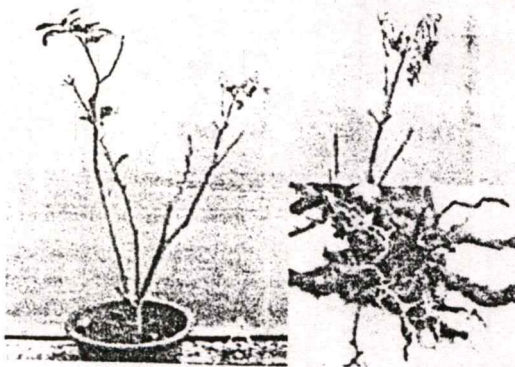


Figure 2. Pathogenicity test (A) Inoculated Pummelo host plants with *Pythium* sp. PP05. (B) dieback of twigs and (C) Root rot symptom

3.3 Growth Inhibition of Pathogen

Result showed that microbial crude extract mixture at the concentration of 2500 ppm. gave the highest inhibition of mycelial growth for 4 days (37.23%) and followed by the concentrations of 2000, 1500, 1000 and 500 ppm. which the per cent inhibition of 27.50, 24.45, 15.56 and 2.70, respectively. when compared to the control. Moreover, it was also shown that the microbial crude extract mixture at the concentration of 2500 ppm. gave the highest significantly difference to inhibit the production of sporangia as 77.39%, and followed by the concentrations of 2000, 1500, 1000 and 500 ppm. which the inhibition of 53.57, 41.68, 30.05 and 24.25%, respectively, compared to the control. The production of oospore showed the highest reduction at the concentration of 2500 ppm. (95.31% inhibition). and followed by 2000, 1500, 1000 and 500 ppm. which inhibited at 83.91, 70.93, 59.20 and 36.28%, respectively as shown in Table 1.

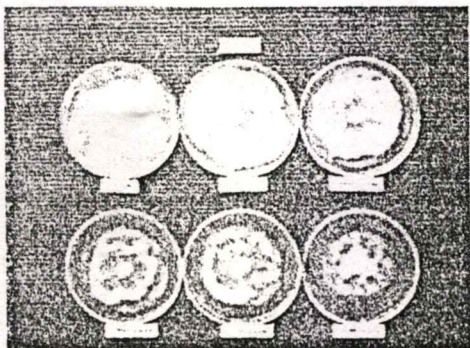


Figure 3. Testing microbial crude extract mixture to inhibit *Pythium* sp. isolate PP05 causing root rot of Pummelo var Tongdee in Petri dishes for 4 days.

Table 1. Tests of microbial crude extract mixture for inhibition of growth, sporangia and oospore of *Pythium* sp. isolate PP05 for 4 days.

concentrations (ppm.)	Per cent of inhibition ¹		
	radial growth	sporangium production	oospore production
500	2.78d ²	24.39c	36.28d
1000	15.56c	30.05c	59.20c
1500	24.45b	41.68bc	70.94b
2000	27.50b	53.57b	83.91ab
2500	37.23a	77.39a	95.31a

¹Percentage of mortality was assessed on the formula:
 $n2-n1/n2 \times 100$; n1= value in treatment, n2= value in control
(0 ppm.) treatment

²Means of four replications. Means followed by a common letter in each column are not significantly different by DMRT at P=0.01.

4. DISCUSSION

Pummelo root rot may become a major disease because of the pathogen is soil-borne. It is observed that all isolates obtained from root symptom of Pummelo var Tongdee proved to be pathogenic to the host plants within 4-8 weeks. It is possible that these isolates may also cause root rot to the other varieties of Pummelo. In our study, the isolate PP05 of *Pythium* sp. was the highest aggressive infection to the tested host plants. This result was similar to the report of Maseko and Coutinho ² in citrus root rot study. It indicated that *Pythium* spp. may probably play a significant role in the development of Pummelo root rot of the other varieties. The traditional control method of *Pythium* spp. have usually been applied the chemical fungicides likr Metalyxyl and Ridomil etc., but it sometime becomes resistant to those chemical fungicides. The extension of agriculture today has concerned for good agricultural practices (GAP), pesticide-free production (PFP) and Organic crops, means trying to reduce or finally stop the use of chemical fungicides. Biological control agents or microbial active substances may play the important role for plant disease control. Our research finding revealed that the microbial crude extract mixture from *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 and *P. chrysogenum* PC gave a positive control to the pathogen, *Pythium* sp. causing root rot of Pummelo var Tongdee. It could reduce the growth of the tested pathogen, reduction of sporangia and oospore at the concentration of 2500 ppm. in 4 days. This work similar to Pretorius et al. ⁴ reported that the crude extract of *Aristea ecklonii* performed best of totally inhibited the mycelial growth of *P. ultimum*. The further research work is interesting to find out the main compound of active substances.

5. REFERENCES

1. Kolombet, L. and Soyong ,K. (1998). *Biological Control of Phytopathology Using Trichoderma viride* Isolate 16. *J. KMITL.* 6(2) : 17-22.

2. Maseko, B.O.Z. and Coutinho, T.A. (2002). *Pathogenicity of Phytophthora and Pythium species associated with citrus root rot in South Africa. South-African-Journal-of-Botany.* 68(3): 327-332.

3. Di Pioto, A.D., Kung, R., Gut, R.M., Sehwin, F.J. and Di, P.A. (1991). *Parameter influencing the efficacy of Chaetomium globosum in controlling Pythium ultimum*

ประวัติผู้เขียน

นายสันติภาพ นวลจำรัส เกิดเมื่อวันที่ 2 พฤศจิกายน 2519 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนคณะราษฎรบำรุง จังหวัดยะลา และสำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2542 ปัจจุบันอยู่บ้านเลขที่ 38 หมู่ 11 ต.ดำเนิน อ.เมือง จ.พัทลุง 93000 ซึ่งผ่านการเดินทางไปปฏิบัติงานวิจัย ณ Shanghai Jiaotong University ประเทศจีน ระหว่างวันที่ 7 - 25 กันยายน 2547 ตามโครงการวิจัยร่วมและพัฒนาภายใต้โครงการความร่วมมือทางวิทยาศาสตร์และวิชาการไทย-จีน