13859

วิทยทรัพยากร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การแยกราจากดินบริเวณแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

Isolation of Soil-borne fungi from horticultural fields at faculty of Agricultural Technology, KMIT Chaokuntaharn, Ladkrabang

โดย

น.ส. ณัฐกานต์ วิละขันคำ

อาจารย์เกษม สรอยทอง ประธานกรรมการที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ. สมภพ ฐิตะวสันต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 1 มีนาคม พ.ศ. 2529

T100041

ปพ.
ณ322ก
2529

สถาบัน.....
เลขทะเบียน 100041
วัน,เดือน,ปี 17 JUN 2009

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การแยกเชื้อราจากดินบริเวณแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

โดย : น.ส. ณัฐกานต์ วิละขันคำ

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตพืช)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการผลิตพืช

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : .....

(เกษม สร้อยทอง)

มี.ค. 29

การศึกษาแยกราจากดินแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ระหว่างวันที่ 15 พฤษภาคม 2528 – 5 มกราคม 2529 จากตัวอย่างดินทั้งหมด 24 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากดินบริเวณแปลงพืชสวน ซึ่งปลูกกระหล่ำปลี, มะเขือเทศ, ถั่วฝักยาว, ข้าวโพดฝักอ่อน, กระเจี๊ยบ, หน่อไม้ฝรั่ง, กุหลาบ, มะลิ, ปาล์มต่าง ๆ , องุ่นทะเล, ไผ่, มะม่วง, กล้วย พบราทั้งสิ้น 80 isolate, 18 genera 28 species ได้แก่รา Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter, Alternaria alternata (Fr.) Keissler, Aspergillus flaviceps (Bain & Sart.) Thom & Church, A. Flavus Link, A. fumigatus Fresenius, A.glaucus. Link, A. nidulans Eidam, A. ochraceus Wilhelm, A. terreus Thom., Chaetomium Kunze, Choanephora cucurbitarum (Berk & Revenel) Thaxter, Cladosporium Link, Cunninghamella echinulata Thaxter., C. verticillate Stadel, Curvularia lunata (Wakker) Beadijn, Emericella rogulosa (Thom & Raper) Benjamin, Fusarium moniliforme. Sheldon., Mucor Micheli., Penicillium nigricans (Bainer) Thom., Pestalotia de Not., Rhizopus arrhizus Fischer, R. oligosporus Saito, Sartoya fumigata.

Vuillemin, Syncephalastrum racemosum Cohn & schroet, Trichoderma viride. (pers. ex S.F.) Gray Aggr., Tolula Pers.

สำหรับเชื้อราที่อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชได้ ที่พบในดินนี้มีหลายชนิดด้วยกัน เช่น Aspergillus spp., A. alternata, C. cucurbitarum, C. lunata, Fusarium spp., Penicillium sp. และ Pestalotia sp. เป็นต้น

ABSTRACT

Title : Isolation of soil-borne fungi from horticultural fields at Faculty of Agricultural Technology, KMIT Chaokuntaharn, Ladkrabang.

By : Nut'Karn Wiraknuncome

Degree : Bachelor of Science (Plant Production Technology)

Major Field : Plant Production Technology

Advisor : Kasem Soytong.

(Kasem Soytong)

March,.....,1986

Twenty four samples of soils from horticultural fields such as cabbages, tomatoes, yard long bean, corn, okra, rose, mangoes and bananas etc. Located in the Faculty of Agricultural Technology, KMIT Chaokuntaharn Ladkrabangwere collected during May, 15, 1985 to January, 5, 1986. By using soil-plate method, 80 isolates of fungal collected were isolated from the samples that have founded to 18 genera and 28 species such as Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter, Alternaria alternata (Fr.) Keissler, Aspergillus flaviceps (Bain. & Sart.) Thom. & Church., A. flavus Link, A. fumigatus Fresenius, A. glaucus Link, A. nidulans Eidam., A. ochraceus Wilhelm., A. terreus Thom., Chaetomium Kunze, Choanephora cucurbitarum (Berk & Revenel) Thaxter., Cladosporium Link., Cunninghamella echinulata Thaxter, C.verticillate Stadel, Curvularia lunata (Wakker) Beadijn, Emericella rogulosa (Thom. & Paper) Benjamin, Fusarium moniliforme Sheldon, F. solani (Mart.) Sacc., F.

tricinctum (Corda) Sacc., Mucor Micheli, Penicillium nigricans (Bainer) Thom., Pestalotia de Not., Rhizopus arrhizus Fischer, R. oligosporus Saito, Sartoya fumigata Vuillemin, Syncephalastrum racemosum Cohn. & Schroet., Trichoderma viride (Pers. ex S.F.) Gray Aggr. and Torula Pers.

Many soil fungi were isolated from horticultural fields might be able to parasitic on the host plants and will occurs to pathogenicity of some fungi onto the other plants. The must common destructive phytopathogenic fungi are Aspergillus spp. A. alternata C. cucurbitarum, C. lunata, Fusarium spp., Penicilium sp. and Pestalotia sp. etc.

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(1)
สารบาญภาพ	(2)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์วิธีการ	7
ผลการทดลอง	12
วิจารณ์	44
สรุป	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	49

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แหล่งตัวอย่างดินที่ใช้ในการแยกเชื้อรา	9
2	ราที่แยกได้จากตัวอย่างดิน	14

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	Absidia corymbifera	16
2	Alternaria alternata	17
3	Aspergillus flaviceps	18
4	A. flavus	19
5	A. fumigatus	20
6	A. glaucus	21
7	A. nidulans	22
8	A. ochraceus	23
9	A. terreus	24
10	Cheatomium sp.	25
11	Choanephora cucurbitarum	26
12	Cladosporium sp.	27
13	Cunninghamella echinulata	28
14	C. verticillate	29
15	Curvularia lunata	30
16	Emericella rogulosa	31
17	Fusarium moniliforme	32
18	F. solani	33
19	F. tricinctum	34
20	Mucor sp.	35
21	Penicillium nigricans	36
22	Pestalotia sp.	37

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	Rhizopus arrhizus	38
24	R. oligosporus	39
25	Sartoya fumigata	40
26	Syncephalastrum racemosum	41
27	Trichoderma viride	42
28	Torula sp.	43

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จเป็นรูปเล่มได้ด้วยความกรุณาของอาจารย์เกษม สร้อยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ช่วยให้ข้อคิด และแนวทางการทดลองตลอดจนแก้ไข ตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนสำเร็จเรียบร้อยบริบูรณ์ มูลนิธิมณีสิริวารสาร ที่ได้ให้ทุนการศึกษา จนข้าพเจ้าได้ศึกษาและทดลองงานชิ้นนี้ได้สำเร็จลุล่วง ข้าพเจ้าขอกราบพระคุณมูลนิธิมณีสิริวารสาร และท่านอาจารย์เกษม สร้อยทอง มา ณ. ที่นี้ด้วย

สุดท้ายข้าพเจ้าขอกราบพระคุณ คุณพ่อ – คุณแม่ คุณหมอนินาท ชนะโชติ ที่ได้ให้กำลังใจและแนะนำทางชีวิตที่ดีแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ณัฐกานต์ วิละขันคำ

การแยกเชื้อราจากดินบริเวณแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

Isolation of soil-borne fungi from horticultural fields at faculty of Agricultural Technology, KMIT Chaokuntaharn, Ladkrabang

คำนำ

เชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคที่มีอยู่ในดินนั้น นับว่ามีความสำคัญ และมีผลกระทบต่อภาวะแวดล้อมอย่างมาก จุลินทรีย์ที่ปะปนอยู่ในดิน ตามเศษซากพืชหรืออินทรีย์วัตถุที่เน่าเปื่อยผุพังต่าง ๆ อาจมีผลทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ได้ รวมทั้งมีผลต่อสัตว์และพืชที่เชื้อโรคเข้าไปอาศัยอยู่ได้ จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่เชื้อรา, แบคทีเรีย, แอคติโนมัยซีส เป็นต้น ในการศึกษาเชื้อรา-สาเหตุโรคพืชในดิน จึงมีการวิจัยกันอย่างแพร่หลายในท้องถิ่นต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชที่อาศัย และมีชีวิตรอดอยู่ในดิน บ่อมมีผลกระทบกระเทือนต่อการเจริญเติบโตของพืช และบ่อมทำให้ผลผลิตต่ำและมีคุณภาพด้อยลงไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและทราบถึงเชื้อราสาเหตุโรคในดินแปลงพืชสวน
2. เพื่อเป็นแนวทางในการหาวิธีการป้องกันกำจัด

การตรวจเอกสาร

ดินในบริเวณรอบรากพืช มักได้รับอิทธิพลจากสารที่ขับออกมาจากรากพืช ซึ่งได้แก่ กรดอะมิโน, น้ำตาล, เอนไซม์, กรดอินทรีย์ และนิวคลีโอไทด์ เป็นต้น ทำให้ดินบริเวณรอบรากพืชมีกิจกรรมชนิดจุลินทรีย์ดินแตกต่างกันออกไป โดยเฉพาะแบคทีเรีย, แอคติโนมัยซีส และ

รา ซึ่งจะพบบริเวณรอบรากพืชมากกว่าดินบริเวณอื่น ๆ (Russell, R.S., 1977)

Aroba และ Dwivedi (1978) ได้ศึกษาการแยกเชื้อราจากดินบริเวณรอบรากพืชพวก Lens esculata พบราหลายชนิดได้แก่ Trichoderma harzinum, Aspergillus flavus, A. niger, Penicillium rubrum, Curvularia lunata, Fusarium sp. เชื้อราในดินบริเวณรอบรากพืชพวก Lens esculata เป็น antagonist ต่อรา

สิริวิภา (2526) รายงานว่า เชื้อราในบริเวณรากส้มเขียวหวานที่เป็นโรครากเน่า และวิธีการคัดเลือกต้นต่อส้มที่ต้านทานต่อเชื้อรา Phytophthora parasitica พบว่าเชื้อราจากดินบริเวณรากส้มเขียวหวานที่แสดงอาการรากเน่า จากจังหวัดเชียงใหม่ ปทุมธานี และนครปฐม โดยวิธี dilution plate บนอาหาร glucose, ammonium nitrate, agar + rose bengal และ streptomycin แยกได้รา Aspergillus spp., Botryodiplodia theobromae Pat., Drechslera spp., Fusarium lateritium Nec., F. oxysporum Schlecht., F. roseum. F. solani (Mat), Gongronella spp., Myrothecium spp. Nigrospora sp., Podospora sp., Rhinocladiella spp., Thielavia spp., Westerdykella multispora (Saito & Minowa) Cejp. & Milco และ Phytophthora parasitica Dastu.

Gillman J.C. (1975) กล่าวว่า การศึกษาชีววิทยาของดิน เป็นการศึกษาที่น่าสนใจและมีความสำคัญ ซึ่งเป็นส่วนประกอบทางความรู้ด้านการเกษตรและชีววิทยา ดินเป็นที่สะสมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด รวมทั้งซากพืช ซากสัตว์ที่ตายแล้ว ก็จะเปลี่ยนรูป โครงสร้าง ซึ่งกลับไปใช้เป็นประโยชน์ต่อพืชและสัตว์ และแหล่งของสิ่งมีชีวิตต่อไป ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ ราเป็นส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญ มักเกี่ยวข้องกับขบวนการของพืช, สัตว์และมนุษย์ จึงจำเป็นจะต้องศึกษากิจกรรมของรา สปอร์รามักจะแพร่กระจายโดยลม เป็นผลในการเข้าทำลายอาหาร ทำลายมนุษย์และสัตว์ ภายใต้ความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม ราดินจึงกลายเป็นปัจจัยที่

สำคัญ โดยทั่วไปมักเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากเห็ดบางชนิด เชื้อโรคที่เป็น soil - borne บางชนิดก็ไม่สามารถแยกได้โดยตรงจากดิน และจากการศึกษาราดิน 2 ลักษณะ ทำการตรวจสอบโดยตรง และแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีแรกมีขีดจำกัดมากกว่าวิธีที่สอง ซึ่งมีคนนิยมกันกว้างขวางกว่าวิธีแรก และพบเชื้อราเป็นส่วนมาก substrate ที่เหมาะสมกับเชื้อรานับว่ามีความสำคัญเป็นอย่างมาก พบรา Saprolegniales แพร่กระจายกว้างขวางในดินและแหล่งอื่น เช่น ในน้ำ มูลสัตว์ หรือซากพืช เทคนิคในการแยกเชื้อราจากน้ำ ต้องใช้ Media ที่เหมาะสม (Hesseltine & Ellis, 1973)

Sparrow และ Sussman (1973) รายงานว่าพบรา Gongronella butleri (Lendu.) Peyronel & Dal Vesces, Absidia spinosa Lenduer, Aspergillus glauca Hagem., Mucor genevensis Lenduer., Mucor hiemalis Wehmer, Mucor ramannianas (Moellr) Limemann, Mortierella และ Zygorhyuchus ทุกชนิด (species) พบในดินหรือวัตถุที่มีดินปะปน Mucor และ Rhizopus หลาย species พบทุกหนทุกแห่ง ที่มีอาหารและความชื้นที่พอเหมาะที่จะเจริญและขยายพันธุ์ได้

Gillman (1957) ได้กล่าวถึงราในดินที่พบใน Mucorales 18 genera 127 species (Wongseenin และ Sundhagel, 1973) โดยแยกราจากดินรอบรากพืช และรากพืชที่เจริญอยู่ในป่าโปร่งและป่าทึบ โดยวิธี dilution plate method และ Tissue transplanting method โดยใช้อาหาร Martin'a agar medium ซึ่งมี Rose bengal และ Streptomycin ผสมอยู่ด้วย เชื้อราที่พบมีราใน Mucorales อยู่ 2 genera คือ Gongronella และ Absidia พบในดินป่าโปร่งและดินป่าทึบ

Johnson และ Curl (1972) ได้แยกเชื้อราจากดินโดยวิธี Soil-plate ใช้อาหารสำหรับแยกเชื้อราจากดิน ตามสูตรของ Kafman และคณะในปี ค.ศ. 1963 สูตรที่ 3

โดยนำดินหรือมูลสัตว์ไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วบดละเอียด เพื่อให้สามารถกระจายในอาหารได้ทั่วถึง จากนั้นนำไปใส่ในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 0.005 – 0.015 กรัม เทอาหารลงบนจานหมุน petridish ให้ตัวอย่างดินกระจายในอาหาร การแยกเชื้อราจากดินโดยวิธี Soil-plat technique นั้น Parakinson และ Thomas (1965) ได้ดัดแปลงจากวิธี Warcup (1950) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถแยกเชื้อราจากดินได้ดีกว่า dilution-plate technique เนื่องจากในการทำ dilution นั้น อนุภาคดินบางส่วนจะจมอยู่ก้นภาชนะทำให้สามารถแยกราบางชนิดที่ติดอยู่กับอนุภาคดินนั้นไม่ได้ แต่เส้นใยของราที่ยึดแน่นกับอนุภาคดินนั้น ไม่สามารถแยกได้ ส่วนการทำ soil-plate นั้น การกระจายตัวด้านนิเวศน์วิทยาของราจะอยู่เป็นกลุ่มของสปอร์ เส้นใยติดอยู่กับอนุภาคดิน การส่งเสริมและจุดมุ่งหมายในการวิจัยเกี่ยวกับลักษณะพื้นฐานทางนิเวศน์วิทยาของจุลินทรีย์ดิน และเน้นงานวิจัยด้าน Soil-borne diseases และ Biological control ทำให้เกิดการพัฒนาวิธีการใหม่ที่ดีกว่าอยู่เสมอ และเห็นว่าการเก็บตัวอย่างดินมาศึกษา ควรเก็บที่ระดับความลึกประมาณ 10 – 20 ซม. (เฉลี่ย 15 ซม.)

บงกช สุวรรณปัท (2528) รายงานว่า รา Mocorales จากดินและมูลสัตว์ ที่พบได้แก่รา Choanephora heterospora Mehrotra ในดินสวนมะละกอ Cunninghamella bainieri Navmov. ดินแปลงทดสอบฟีชไร่ ไร่สุวรรณ ปากช่อง นครราชสีมา, ดินแปลงพริก กาญจนบุรี, ดินสวนส้ม จ. ชัยนาท C. echinulata Thaxter ดินแปลงพริก กาญจนบุรี, ดินสวนส้ม ชัยนาท, ดินป่า อำเภอทางผาภูมิ กาญจนบุรี, ดินป่า แม่ริม จ. เชียงใหม่, ดินนา ขุมแพ ขอนแก่น, ดินแปลงทดลอง สถานีทดลองฟีชไร่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น C. verticillate Stadel ดินแปลงฟีชไร่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น Absidia corymbifera (Cohn) Sacc & Trotter ดินสวนยางพารา จ. สงขลา Circinella rigata Smith ดินแปลงพริก จ. กาญจนบุรี Gilbertella persicaria (Eddy) Hesseltin, black strain ดินนา จ. อุดรธานี ดินสวนส้ม อำเภอค่าเนินสะควก ราชบุรี, ดินสวนมะละกอ ค่าเนินสะควก ราชบุรี Gilbertella penicaria (Eddy) Hesseltine, brown strain ดินสวนยางกอกน้อย

กรุงเทพฯ Mucor bacilliforus Hesseltine ดินแปลงพริก กาญจนบุรี M. Javanicus Wehmer ดินแปลงผัก อ.ฝาง จ. เชียงใหม่ M. Lavsannesis Leader ดินแปลงผัก ฝาง จ. เชียงใหม่ Rhizopus microsporus Van Tieghn ดินนาชุมแพ ขอนแก่น ดินแปลงทดสอบฟีชไร่ ไร่สุวรรณ ปากช่อง นครราชสีมา ดินป่า ภูเก็ต R. arrhizus Fischer ดินป่าทองผาภูมิ กาญจนบุรี R. javanicus Takede ดินแปลงพริก กาญจนบุรี ดินไร่อ้อยกำแพงเพชร R. Oryzae Went และ Prinsus-Geerligs ดินแปลงพริกเมืองกาญจนบุรี Syncephalastum racemosum Cohn. ex Schrocterดินป่าแม่ริม เชียงใหม่

Menzites (1963) กล่าวถึงการสำรวจโดยตรง เกี่ยวกับประชากรของเชื้อโรคในดิน การศึกษาจุลินทรีย์ สาเหตุเชื้อโรคในดิน ยังไม่มีวิธีการเพียงพอสำหรับการสังเกตุโดยตรง หรือการวัด เทคนิคการสุ่มตัวอย่างดินและ inoculum ส่วนที่ขยายพันธุ์นั้น สามารถแพร่กระจายไปโดยพาหะต่าง ๆ ซึ่งไม่ง่ายในการศึกษาสภาพแวดล้อมของดิน ฉะนั้นวิธีการใหม่และ concept ใหม่ ๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งปัญหาเหล่านี้นำมาปรับปรุงได้ การเกิดโรคกับระบบรากพืชนั้น ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ใกล้ชิดของรากและ inoculum ที่ทำให้เกิดโรคซึ่งจำนวน inoculum และจำนวนปริมาณรากที่เกิดโรค จะไม่มีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ inoculum เช่น สิ่งแวดล้อมของดินปัจจัยเหล่านี้ ขึ้นอยู่กับการจัดการดินด้วย ซึ่งนับว่าเป็นพื้นฐานในการควบคุมชีวภาพด้วย เชื้อโรคพืชในดินที่มีผลต่อปริมาณการเกิดโรคที่รากพืช ขึ้นอยู่กับ inoculum และ inoculum potential (ผลของสิ่งแวดล้อม ความแข็งแรงของเชื้อโรคที่เข้าทำลาย ความง่ายต่อการเกิดโรคของพืชอาศัย) และปริมาณ inoculum ซึ่งเป็นผลจากปริมาณของเชื้อ และปัจจัยสิ่งแวดล้อมนี้มีอิทธิพลต่อการได้รับอาหารของ inoculum บริเวณผิวหน้าของ host จึงจำเป็นต้องทราบอิทธิพลของ inoculum โดยตรง เช่น การเปลี่ยนแปลงเพื่ออยู่รอด การเข้าทำลายพืชอาศัยโดยตรง ง่ายต่อการเกิดโรคเป็นต้น เพราะฉะนั้น รายละเอียดในการศึกษาเชื้อสาเหตุโรคในดิน อื่น ๆ ซึ่งหมายถึงการวัดปริมาณ inoculum ของเชื้อ ความสามารถของเชื้อที่อยู่ในดิน ในการเข้าทำลายพืชอาศัย ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมและการเกิดโรคตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของเชื้อสาเหตุ การวัดปริมาณ

ของเชื้อสาเหตุในดินนั้น เป็นสิ่งที่ยากและทำได้ไม่แน่นอน จากวิธีการสังเกตุโดยตรงนั้น รา หลายชนิดสร้าง sclerotia, sporophore หรือ Rhizomorphus ซึ่งสามารถเห็นได้ชัด และแยกออกจากดินได้ sclerotia ของรา Sclerotium rolfsii ซึ่งสามารถนับปริมาณได้แน่นอน นอกจากนี้ยังมีเชื้อราที่สร้าง sclerotia อื่น ๆ อีก ได้แก่ Sclerotinia spp., Typhula, Phymatotrichum และ Claviceps เป็นต้น fruiting bodies ขนาดใหญ่ และ Rhizomorphs สามารถนับได้ หรือแยกจากดิน พบได้ในดินหรือเนื้อเยื่อพืชที่เน่าสลาย เช่น Armillaria mella, Ganoderma pseudofereum, Fomes spp. เป็นต้น

ในกรณีที่ราสาเหตุ สร้างสปอร์หรือเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากนั้นสามารถจะนับได้จากการเตรียมตัวอย่างดิน ซึ่งเป็นการศึกษาที่ยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีวิธีแยกราจากดินโดยวิธี Floatation method ซึ่งสามารถนับปริมาณสปอร์ของรา Helminthosporium sativum จากดิน โดยนำตัวอย่างดินที่มีความชื้น 10% ใช้ผสมกับ mineral oil ซึ่งมีน้ำหนักเท่ากับครึ่งหนึ่งของตัวอย่างดิน ใส่น้ำในหลอดทดสอบ เขย่าแรง ๆ และทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน สปอร์จะติดอยู่กับ emulsion นั้น ผสมใน Potato dextose agar แล้วตรวจดูภายใต้กล้องจุลทัศน์ สามารถพบสปอร์ในดินเพิ่มเป็น 98% และวัดความมีชีวิตของสปอร์ได้จากตัวอย่างดินพบว่า มีสปอร์โดยเฉลี่ย 178 หน่วยต่อกรัม จากการสังเกตุการเกิดรากเน่า ราที่ทำให้เกิดโรคกับต้นอ่อนในเรือนทดลอง และในแปลง มีแนวโน้มของปริมาณสปอร์ Helminthosporium ในดินแตกต่างกัน

ราที่พบในเศษซากพืชเสมอ ได้แก่ Rhizoctonia solani และ Aphanomyces euteiches เส้นใยของ Rhizoctonia และ Oospore ของ Aphanomyces จากการเจริญของเชื้อในเศษพืชบนอาหารวุ้น การใช้ selective media ในการแยกราจากดินยังเป็นปัญหาที่เราต้องหา Artificial substrate ที่เหมาะสม ราที่ต้องการทราบอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรานั้น ๆ ซึ่งอาจจะใช้มาเป็นลักษณะการปรับปรุง selective media การใช้สารปฏิชีวนะ เป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญสำหรับ selective media ในการแยกราจากดินและสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งเชื้อรา ได้นำมาเป็นประโยชน์สำหรับใช้เป็น selective media สำหรับ Saprophytic fungi ที่ราเจริญอย่างรวดเร็วพบว่าสามารถ

เพิ่ม oxygall rose bengal Sodium propinate และ tourchorlate material เหล่านี้ใช้ในการแยกเชื้อสาเหตุโรคและรา Basidiomycetes สามารถใช้อาหารที่มี O - phenyl - phenol

Cole และ Kendrick (1981) รายงานว่าในปลายปี 1880 เริ่มศึกษาราในดินโดยการแยกและจำแนกราจากดิน และได้จัดกลุ่มราดินเป็น Obligate saprophyte และ Facultative parasites ซึ่งประเภทแรกมีจำนวนมากกว่านั้นนับว่าเป็นระยะแรกของการศึกษาราวิทยาในดิน ทำให้รู้ว่าภายในดินมีราเป็นจำนวนมาก ได้แก่ Aspergillus, Botrytis, Cladosporium, Mucor, Penicillium และ Trichoderma หลังจากนี้ได้เริ่มศึกษาและแยกราในดินจากส่วนต่าง ๆ ของโลก ซึ่งพบราที่มีอยู่ทั่วไปในดิน เช่น Aspergillus, Mucor, Penicillium, Trichoderma, Cladosporium, Fusarium, Cephalosporium, Rhizopus, zygorhychus, Alternaria, Verticillium , Scopulariopsis, Mortierella, Cylindrocarpon และ Monotospora การแยกราจากดินนั้น ต้องมีสภาพความเหมาะสมในวิธีการแยกด้วย เนื่องด้วยรามีคุณสมบัติทางสรีรวิทยาแตกต่างกันไป ฉะนั้นการแยกราดินไม่อาจใช้วิธีการเดียวกันได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ที่ใช้

1. ตัวอย่างดิน
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ — Potato Dextose Agar
   — Czapek's Agar
   — Kafman Agar สูตรที่ 3
3. หลอดทดสอบ
4. จานเลี้ยงเชื้อ
5. เข็มเขี่ย, ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. กล้องจุลทัศน์
7. วัสดุอื่น ๆ ที่จำเป็นต้องใช้ในการทดลอง

วิธีการดำเนินการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่าง ๆ ในแปลงปลูกพืชสวน ในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง รวม 24 ตัวอย่าง โดยการเก็บตัวอย่างดินจากผิวหน้าดินความลึกไม่เกิน 6 นิ้ว บริเวณโคนต้นหรือรากพืชที่ปลูก (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แหล่งตัวอย่างดินที่ใช้ในการแยกเชื้อรา

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่างดิน	ชนิดของพืชที่ปลูก
1	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	มะเขือเทศ
2	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	มะเขือเทศ
3	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ถั่วฝักยาว
4	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ผักบุ้ง
5	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ข้าวโพดฝักอ่อน
6	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ข้าวโพดฝักอ่อน
7	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ข้าวโพดฝักอ่อน
8	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	ข้าวโพดฝักอ่อน
9	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	หน่อไม้ฝรั่ง
10	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	หน่อไม้ฝรั่ง
11	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	หน่อไม้ฝรั่ง
12	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ดอก)	กุหลาบ
13	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ดอก)	มะลิ
14	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ดอก)	มะลิ
15	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	อุ่นทะเล
16	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	ปาล์มตาลแดง
17	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	ต้นไผ่
18	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	ปาล์มจีบ
19	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	ปาล์มพัด
20	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ประดับ)	ปาล์มขนนก
21	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	กระเจี๊ยบ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	ชนิดของตัวอย่างดิน	ชนิดของพืชที่ปลูก
22	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (พืชผัก)	กระหล่ำปลี
23	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ผล)	มะม่วง
24	ดินบริเวณแปลงพืชสวน (ไม้ผล)	กล้วย

2. การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และการเก็บรักษา

แยกเชื้อราจากดินโดยวิธี Soil Plate Method อาหารที่ใช้แยกเชื้อราจากดินใช้สูตรของ Kafman Agar และคณะ ในปี 1963 สูตรที่ 3 โดยนำดินที่เก็บมาผึ่งลมให้แห้งแล้วบดให้ละเอียด เพื่อให้กระจายในอาหารได้ทั่วถึง จากนั้นนำมาใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 0.005 – 0.015 กรัม เทอาหารลง แล้วหมุนจานเลี้ยงเชื้อให้ตัวอย่างดินกระจายทั่วในอาหาร ทำการทดลอง 5 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง เมื่ออาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่มเชื้อเพื่อรอให้เชื้อเจริญ (การบ่มเชื้อ ในกรณีใช้อาหาร Kafman เราจะใช้บ่มในที่มืดเพราะ rose bengal มีผลต่อแสง เพราะถ้าได้รับแสงแล้ว อาหารจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา)

ทำการตรวจเชื้อเมื่อบ่มเชื้อได้ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราหรือโคโลนีของเชื้อราเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเลี้ยงเชื้อใช้เข็มเขี่ย เขี่ยส่วนของปลายเส้นใยที่กำลังเจริญเติบโตย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextose Agar ในจานเลี้ยงเชื้อเมื่อราเจริญเต็มที่ นำไปเลี้ยงบนหลอดทดสอบอาหาร PDA slant ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป

สำหรับการเก็บตัวอย่างที่แยกได้นั้น ทำได้โดยเลี้ยงราบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PDA slant เมื่อเชื้อราเจริญเต็มผิวหน้าอาหารแล้วนำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

ผลการทดลอง

จากการศึกษาการแยกราจากดิน บริเวณแปลงฟิชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง จากตัวอย่างดินทั้งหมด 24 ตัวอย่าง พบราทั้งสิ้น 80 isolates, 18 genera และ 28 species (ตารางที่ 2) ได้แก่รา Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter. พบในดินบริเวณแปลงปลูกมะเขือเทศ (ภาพที่ 1) Alternaria alternata (Fr.) Keissler พบในดินบริเวณแปลงปลูกผักบุ้ง (ภาพที่ 2) Aspergillus flaviceps (Bain. & Sart.) Thom & Church พบในดินบริเวณแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ฝรั่ง กุหลาบ ต้นไผ่และปาล์มจีบ (ภาพที่ 3) A. flavus Link พบในดินแปลงมะเขือเทศและผักบุ้ง (ภาพที่ 4) A. fumigatus Fresenius พบในดินแปลงข้าวโพดฝักอ่อน, มะลิและองุ่นทะเล (ภาพที่ 5) A. glaucus Link พบในดินแปลงข้าวโพดฝักอ่อนและหน่อไม้ฝรั่ง (ภาพที่ 6) A. nidulans Eidam พบในดินแปลงมะเขือเทศ ผักบุ้งและกล้วย (ภาพที่ 7) A. ochraceus Wilhelm พบในดินแปลงหน่อไม้ฝรั่งและปาล์มพัด (ภาพที่ 8), A. terreus Thom. พบในดินแปลงมะเขือเทศ ถั่วฝักยาว, ผักบุ้ง, ข้าวโพดฝักอ่อน, องุ่นทะเลและกระเจี๊ยบ (ภาพที่ 9) Chaetomium kunze พบในดินแปลงข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ฝรั่งและกระหล่ำปลี (ภาพที่ 10) Choanephora cucurbitarum (Berk & Revenel) Thaxter พบในดินแปลงกุหลาบ (ภาพที่ 11) Cladosporium Link พบในดินแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อน (ภาพที่ 12) Cunninghamella echinulata Thaxter พบในดินแปลงปลูกถั่วฝักยาว ข้าวโพดฝักอ่อน องุ่นทะเล, มะลิและกล้วย (ภาพที่ 13), C. Verticillate Stadel พบในดินแปลงมะลิและหน่อไม้ฝรั่ง (ภาพที่ 14) Curvularia lunata (Wakker) Baedijn พบในดินแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนและปาล์มพัด (ภาพที่ 15), Emericella rogulosa (Thom & Raper) Benjamin พบในดินแปลงปลูกมะเขือเทศ, ข้าวโพดฝักอ่อนและหน่อไม้ฝรั่ง (ภาพที่ 16), Fusarium moniliform (Sheldon) พบในดินแปลงมะเขือเทศ, ข้าวโพดฝักอ่อนและมะลิ (ภาพที่ 17) F. solani (Mart.) Sacc. พบในดินแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง, กะหล่ำปลีและกล้วย (ภาพที่ 18)

F. tricinctum (Corda) Sacc. พบในดินแปลงมะลิและป่าสมตาลแดง (ภาพที่ 19) Mucor Micheli พบในดินแปลงกุหลาบ (ภาพที่ 20) Penicillium nigricans (Bainer) Thom พบในดินปลูกข้าวโพดฝักอ่อน, ป่าสมตาลแดง, ป่าสมจีบ, กระหล่ำปลีและมะม่วง (ภาพที่ 21) Pestalotia de. Not. พบในดินป่าสมขนนก (ภาพที่ 22) Rhizopus arrhizus Fischer. พบในดินแปลงปลูกมะเขือเทศ, หน่อไม้ฝรั่งและกระเจี๊ยบ (ภาพที่ 23) R. oligosporus Saito พบในดินปลูกข้าวโพดฝักอ่อน (ภาพที่ 24) Sartoya fumigata Vuillemin พบในดินแปลงมะเขือเทศ, ข้าวโพดฝักอ่อนและกล้วย (ภาพที่ 25) Syncephalastrum racemosum Cohn & Schroet พบในดินแปลงปลูกมะเขือเทศ, องุ่นทะเลและกล้วย (ภาพที่ 26) Trichoderma viride (Pers. ex S.F.) Gray Aggr. พบในดินแปลงปลูกมะเขือเทศ, ป่าสมตาลแดง, ป่าสมจีบและกล้วย (ภาพที่ 27) Torula Pers. พบในดินแปลงปลูกมะเขือเทศและมะม่วง (ภาพที่ 28)

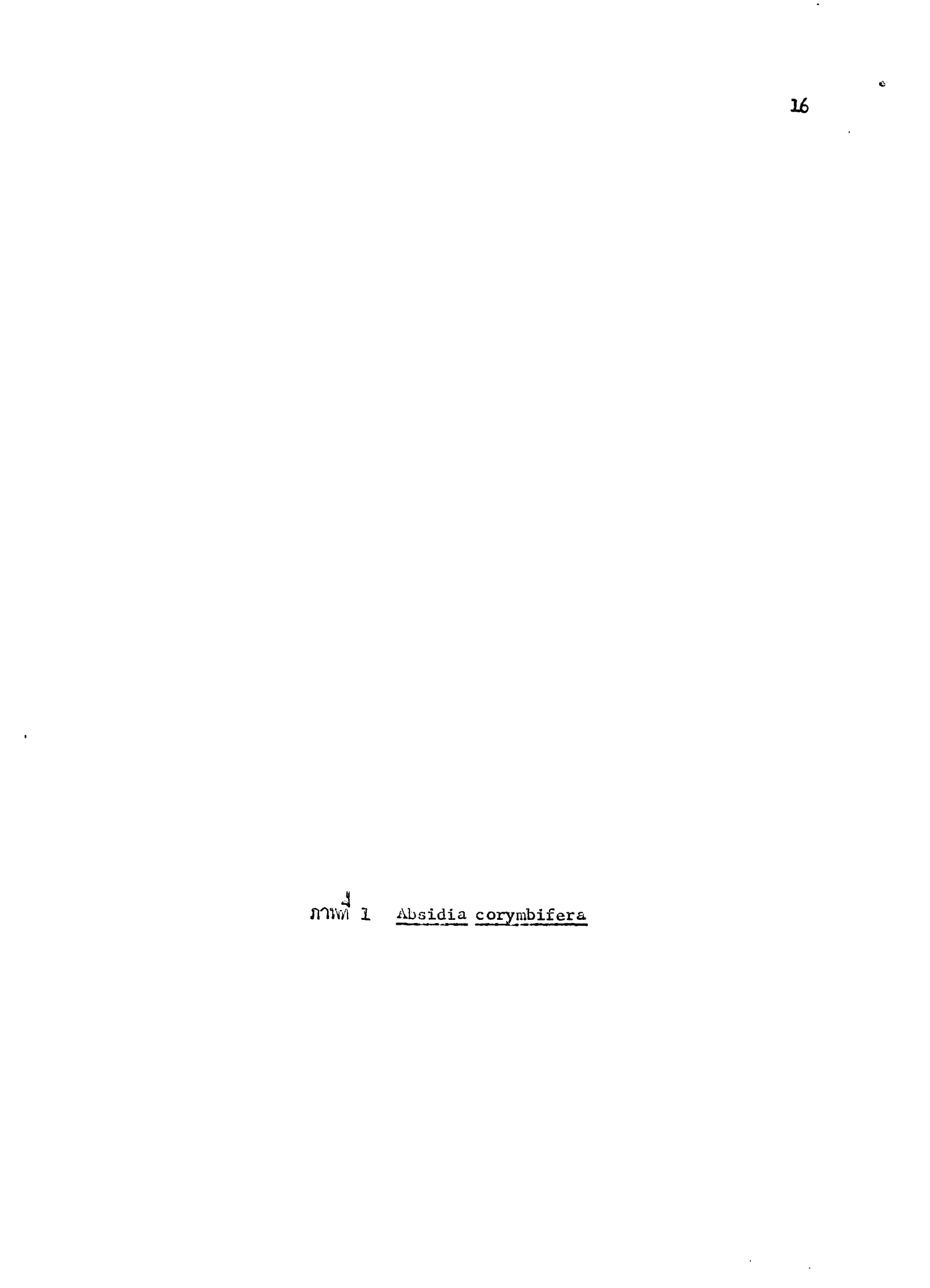
ตารางที่ 2 เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

เชื้อรา	ลำดับแหล่งตัวอย่างดินหมายเลขรหัส และจำนวน	ที่แยกได้ 1/
1. Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter	02 (0204)	= 1
2. Alternaria alternata (Fr.) Keissler	04 (0403)	= 1
3. Aspergillus flaviceps (Bain & Sart.) Thom & Church	07(0704), 11(1101),12(1201) 17(1701), 18(1802)	= 5
4. A. flavus Link	03(0302), 05(0501)	= 2
5. A. fumigatus Fresenius	07(0703), 13(1302),15(1503)	= 3
6. A. glaucus Link	08(0801), 09(0902)	= 2
7. A. nidulans Eidam	02(0205), 04(0401),24(2402)	= 3
8. A. ochraceus Wilhelm	09(0901), 10(1002),19(1901)	= 3
9. A. terreus Thom	02(0201), 03(0301),04(0402) 07(0705), 15(1504),20(2001)	= 6
10. Chaetomium Kunze	07(0702), 09(0904),22(2202)	= 3
11. Choanephora cucurbitarum (Berk & Kevenal) Thaxter	12(1203)	= 1
12. Cladosporium Link	06(0601)	1
13. Cunninghamella echinulata Thaxter	03(0303), 07(0707),14(1401) 15(1501), 24(2406)	5
14. C. verticillate Stadel	10(1002), 13(1302)	2

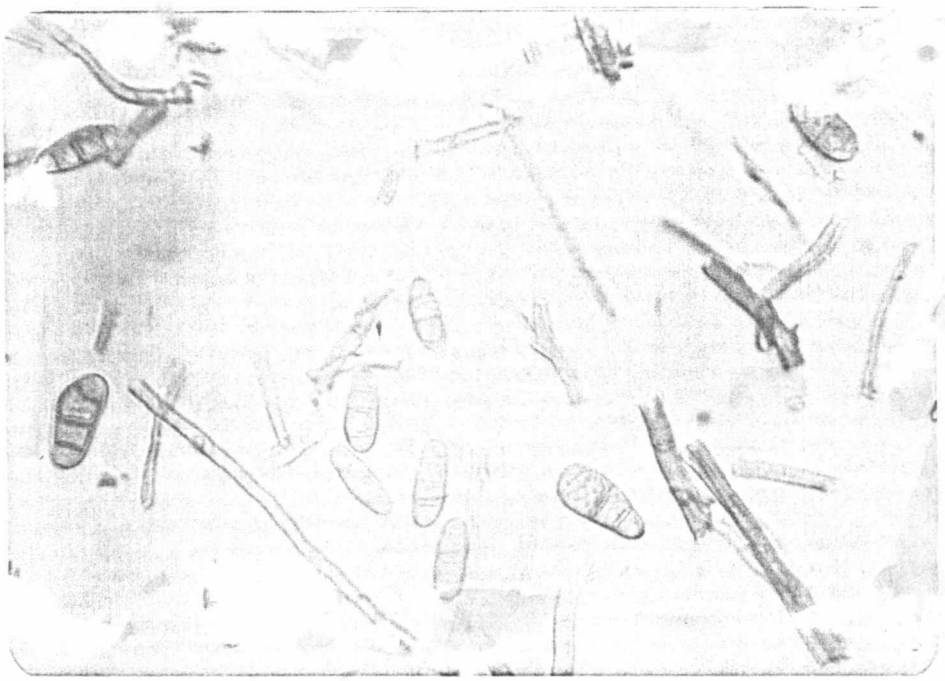
ตารางที่ 2 (ต่อ)

เชื้อรา	ลำดับแหล่งตัวอย่างดินหมายเลขรหัส และจำนวน ที่แยกได้ 1/
15. Curvularia lunata (Wakker) Baedijn	05(0502), 07(0701),07(0702) 19(1902) = 4
16. Emericella rogulosa (Thom & Kaper) Benjamin	01(0104), 02(0203), 06(0601) 09(0903) = 4
17. Fusarium moniliforme Sheldon	01(0105), 08(0803), 14(1402) = 3
18. F. solani (Mart) Sacc.	10(1005), 11(1102), 21(2101) 24(2405) = 4
19. F. tricinctum (Corda) Sacc.	13(1301), 16(1602) = 2
20. Mucor Micheli	12(1202) = 1
21. Penicillium nigricans (Bainer) Thom	07(0709), 08(0802), 16(1603) 18(1801), 22(2201), 23(2301) = 6
22. Pestalotia de Not	20(2002)
23. Rhizopus arrhizus Fischer	02(0206), 10(1004), 21(2102) = 3
24. R. oligosporus Saito	07(0706) = 1
25. Sartoya fumigata Vuillemin	01(0101), 07(0701), 24(2401) = 3
26. Syncephalastrum racemosum Cohn & schroet.	01(0103), 15(1502), 24(2403) = 3
27. Trichoderma viride (Pers. ex. S.F. Gray Aggr.	02(0201), 16(1601), 18(1801) 24(2403) = 4
28. Torula Pers.	01(0102), 23(2302) = 2

1/ ลำดับที่ของแหล่งตัวอย่าง แสดงชนิดและแหล่งที่เก็บตัวอย่างตามตารางที่ 1 ตัวเลขในวงเล็บ ตามหลังลำดับที่ของตัวอยางคือ หมายเลขรหัสของ isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างนั้น ตัวเลขตามหลังเครื่องหมายเท่ากับ = คือจำนวน isolate ทั้งหมดที่แยกได้

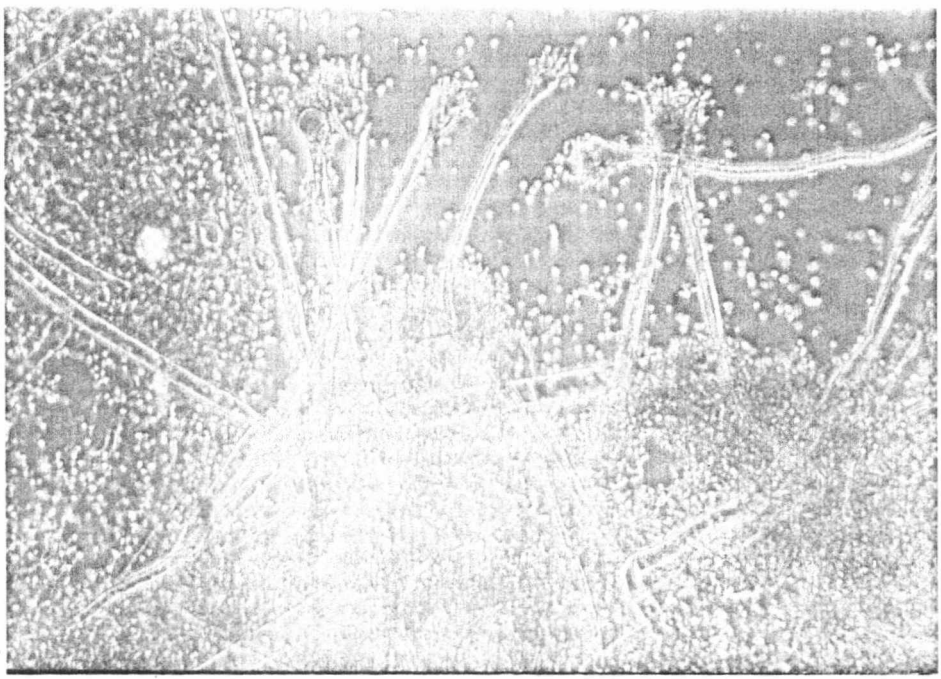


ภาพที่ 1 Absidia corymbifera

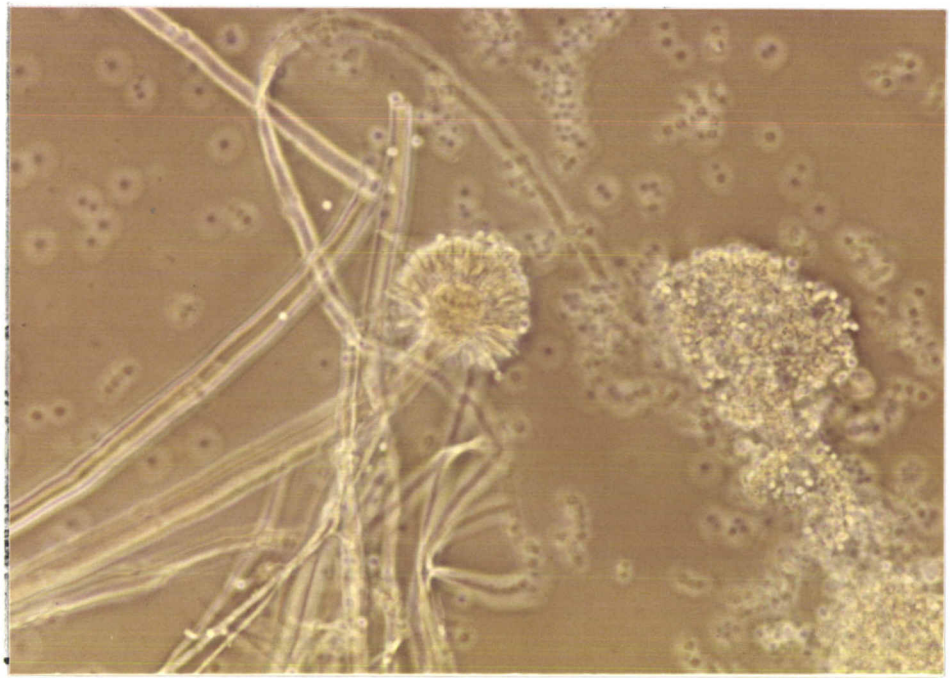


ภาพที่ 2 Alternaria alternata

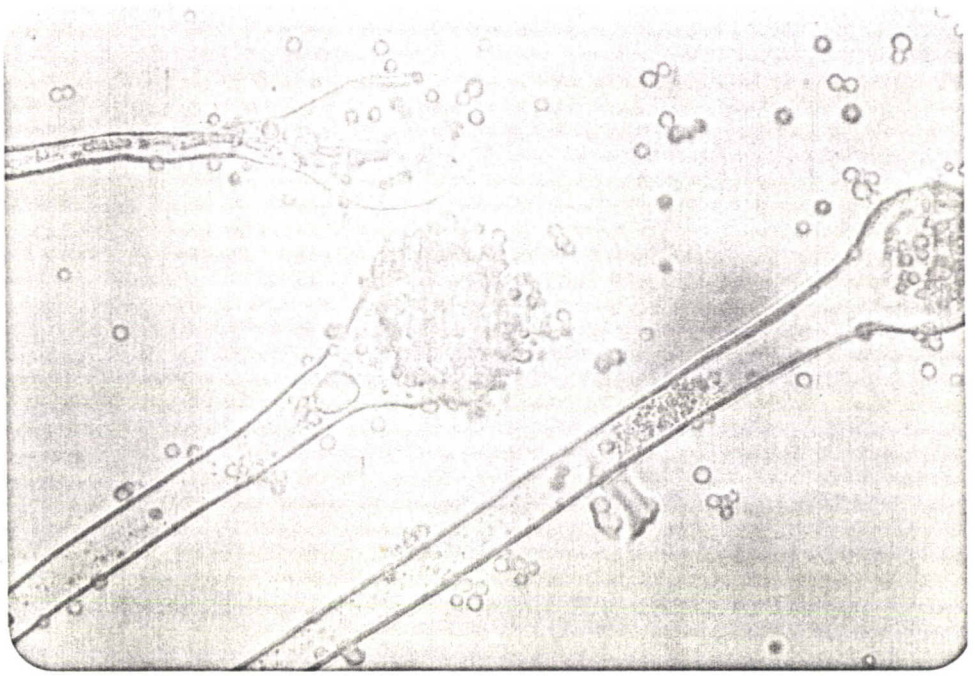
100041



ภาพที่ 3 Aspergillus flaviceps

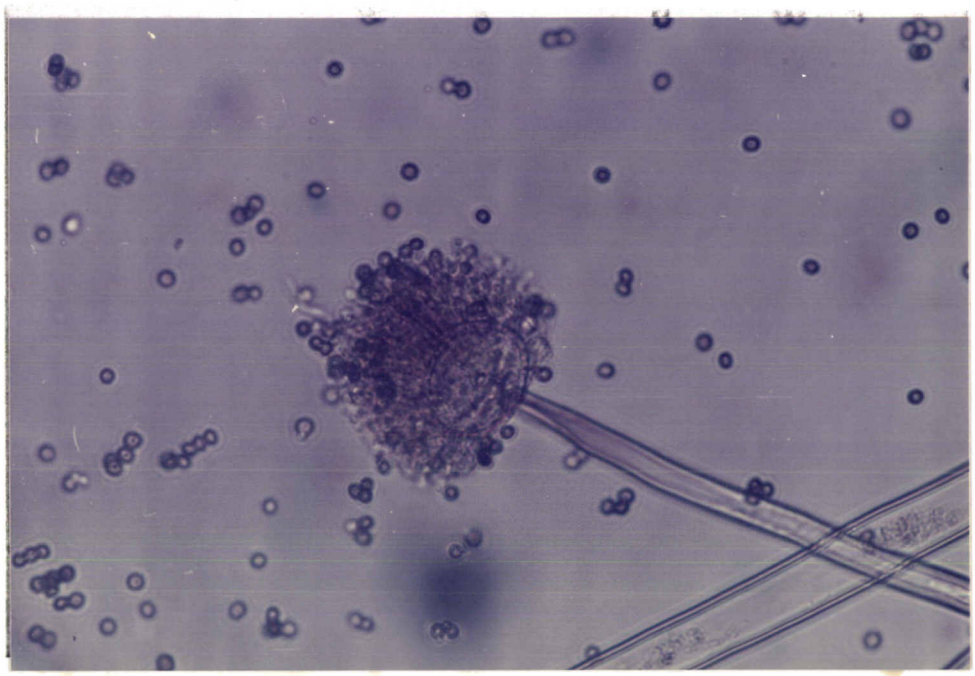


ภาพที่ 4 Aspergillus flavus



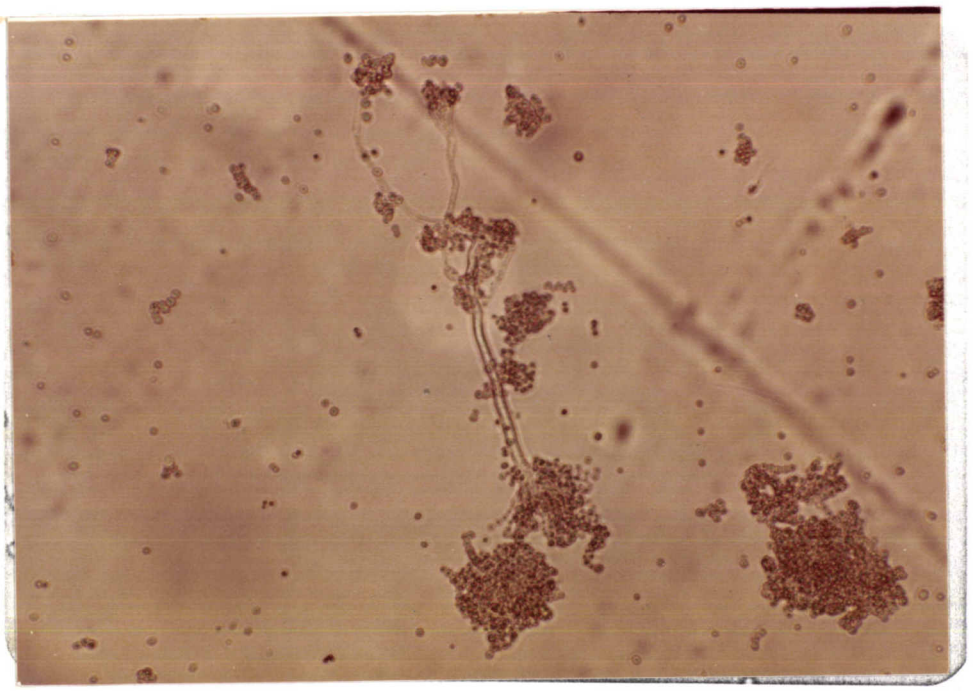
ภาพที่ 5 Aspergillus fumigatus

13859

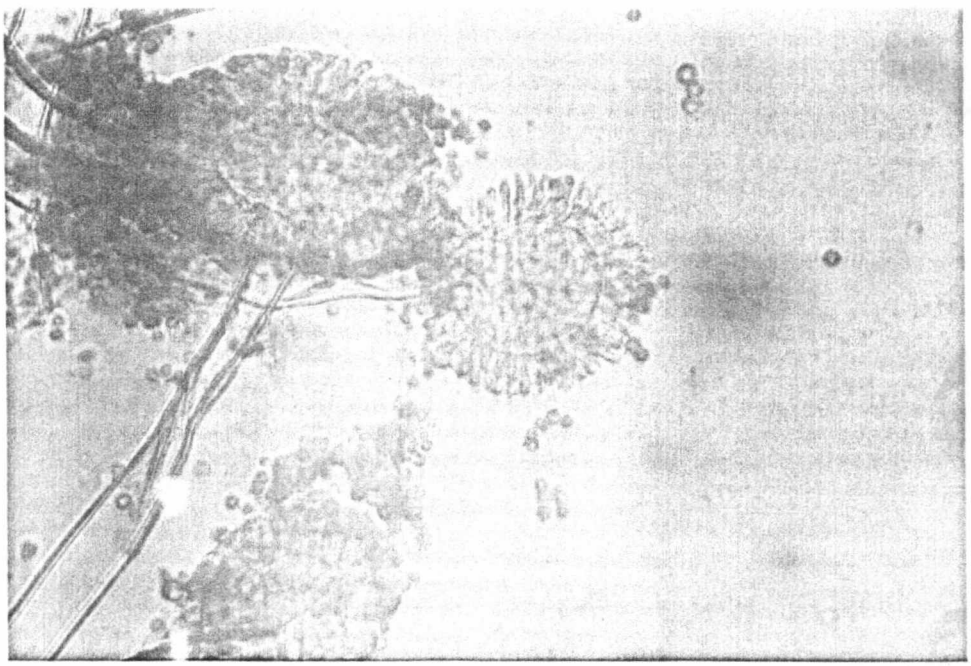


ภาพที่ 6 Aspergillus glaucus

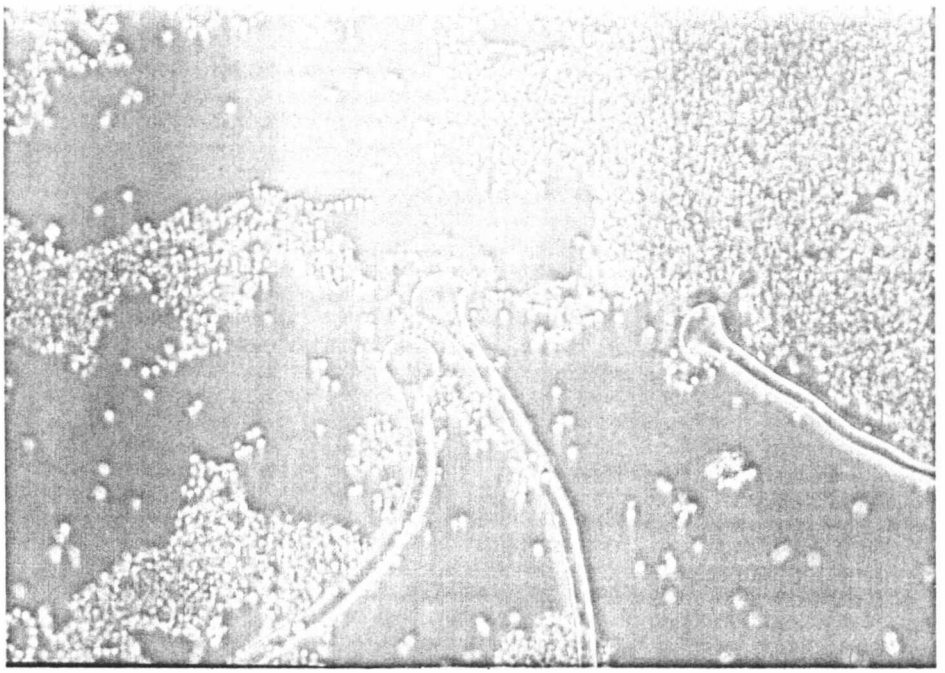
หอสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง



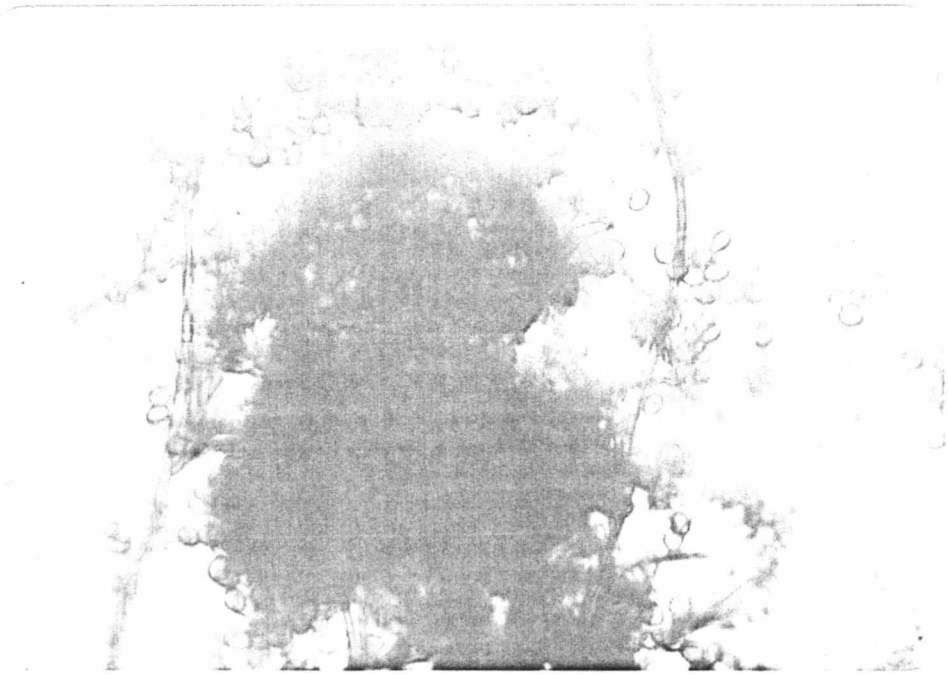
ภาพที่ 7 Aspergillus nidulans



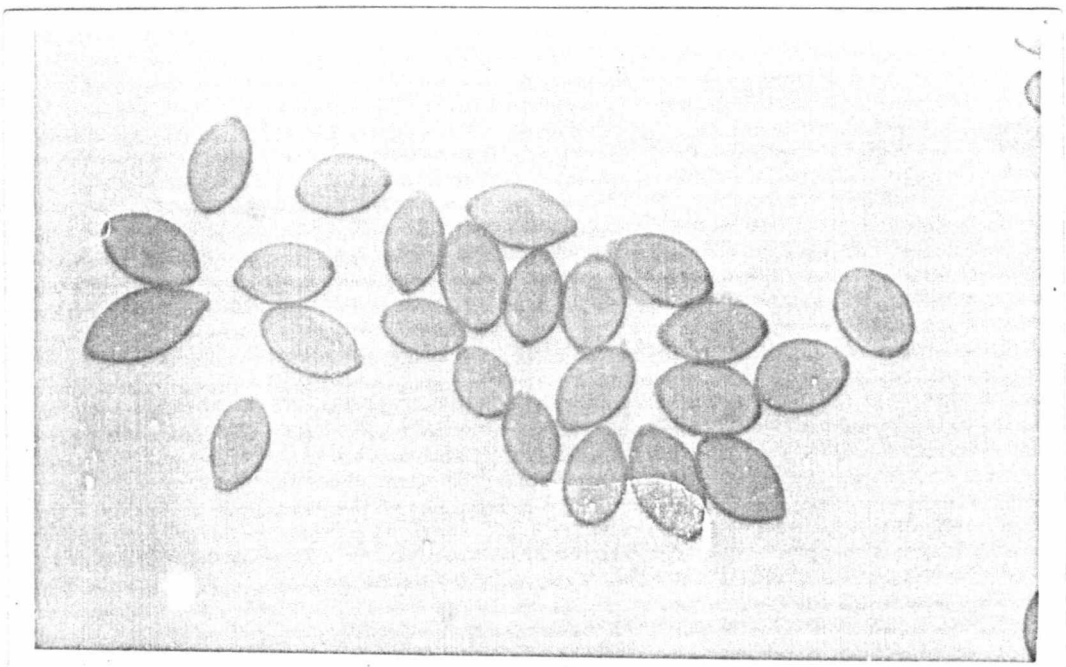
ภาพที่ 8 Aspergillus ochraceus



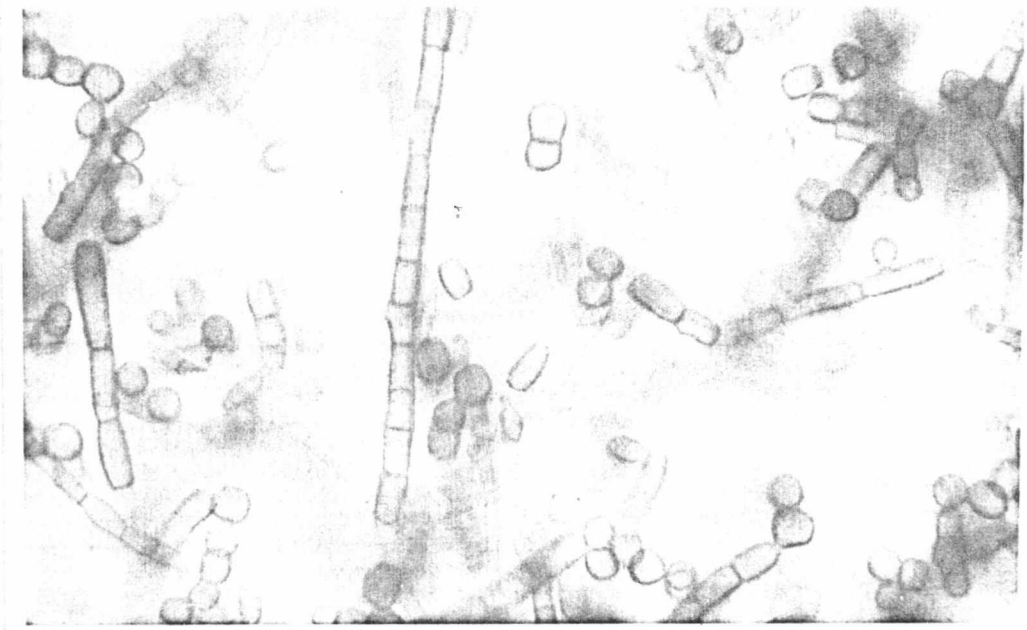
ภาพที่ 9 Aspergillus terreus



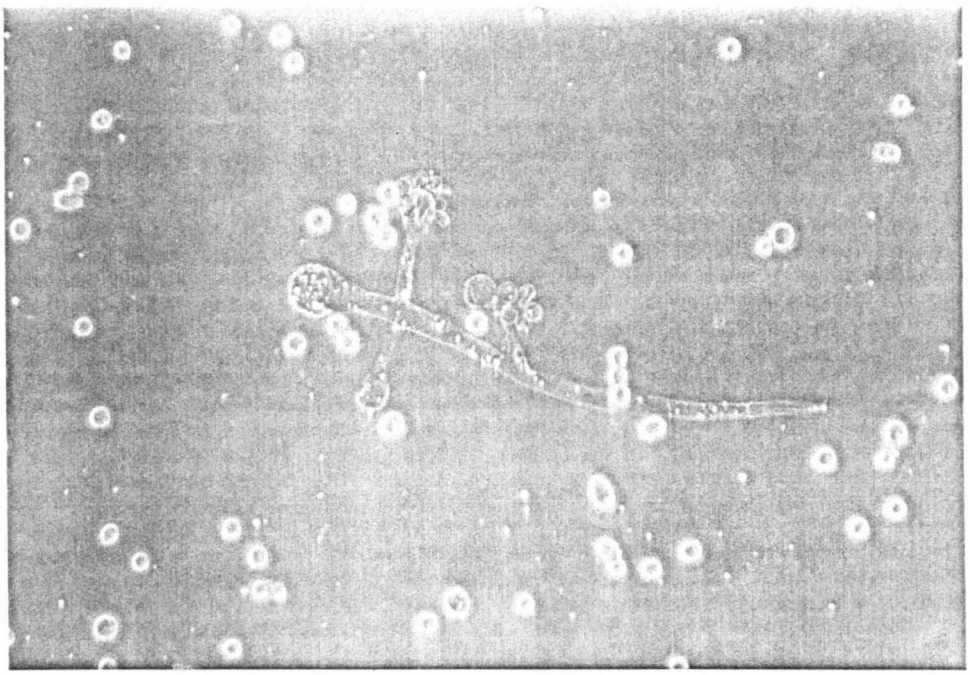
ภาพที่ 10 Chaetomium sp.



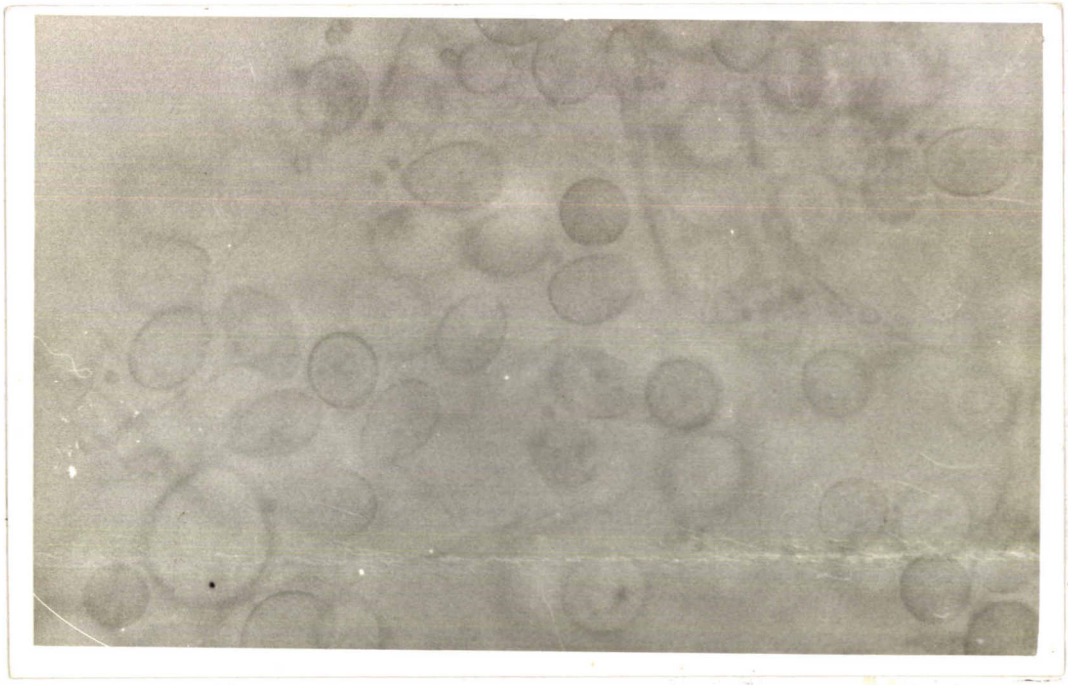
ภาพที่ 11 Choanephora cucurbitarum



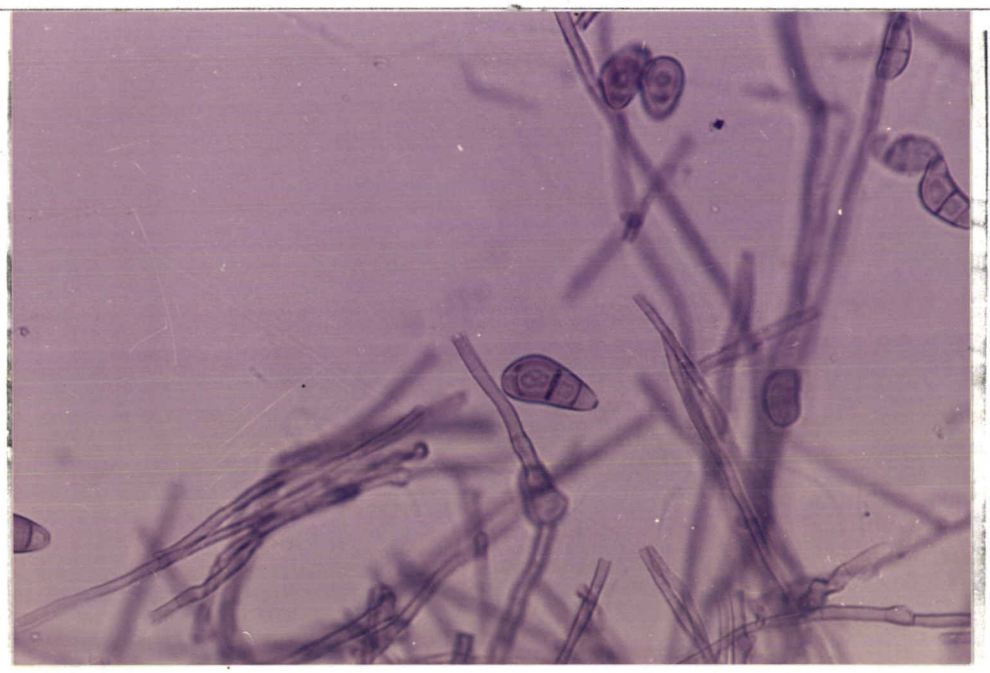
ภาพที่ 12 Cladosporium sp.



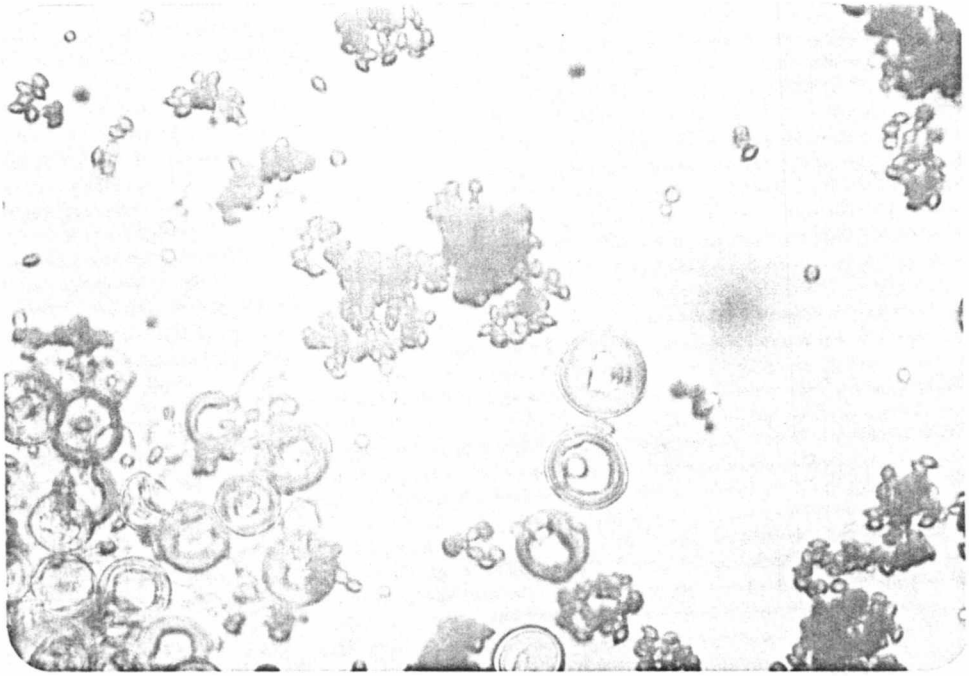
ภาพที่ 13 Cunninghamella echinulata



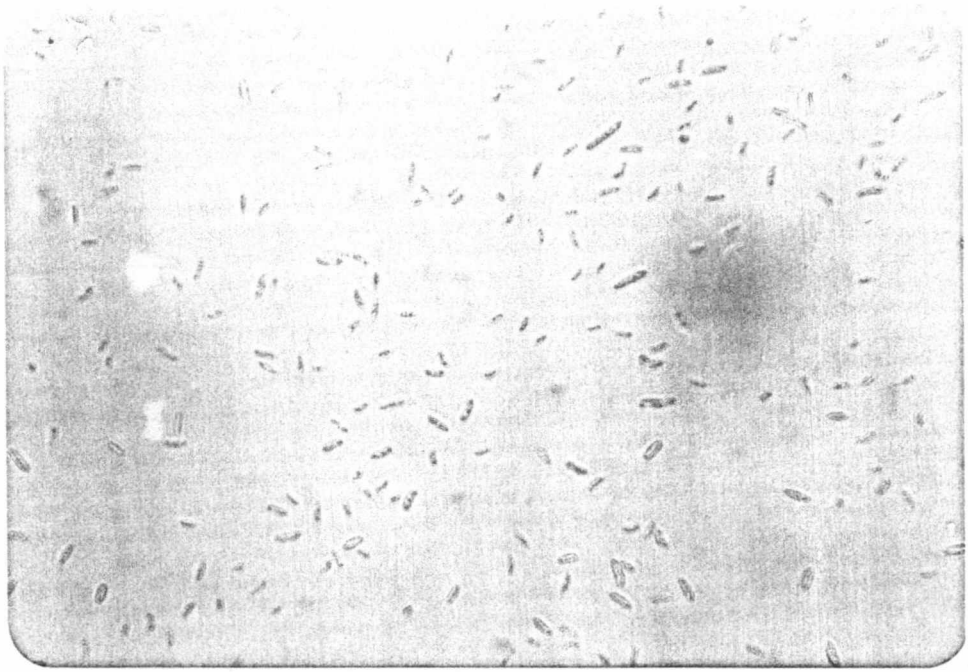
ภาพที่ 14 Cunninghamella verticillate



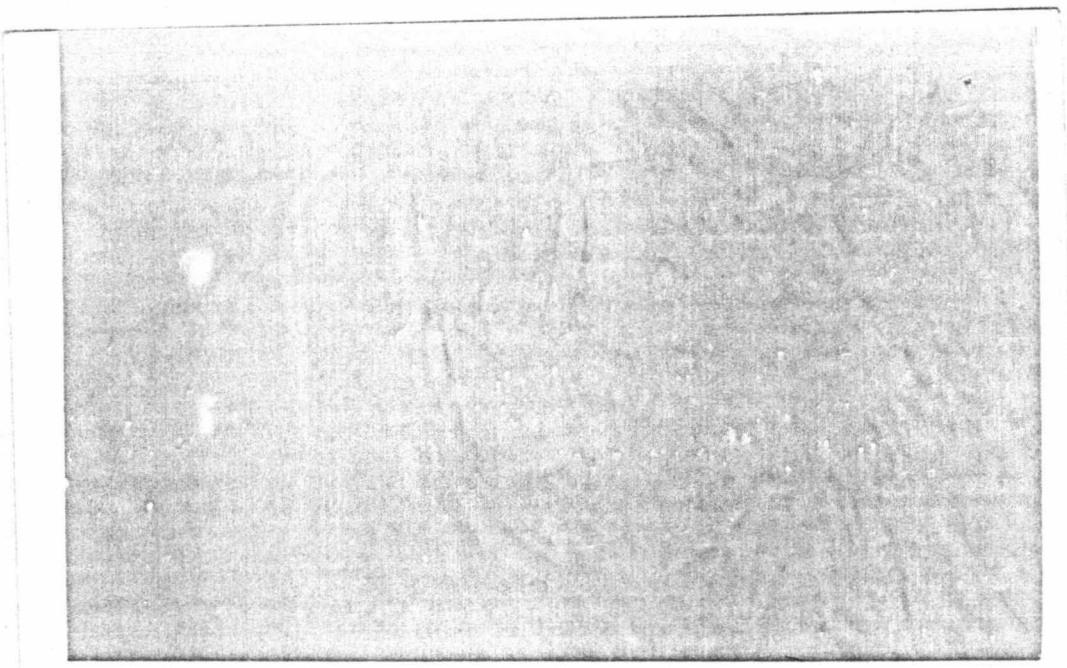
ภาพที่ 15 Curvularia lunata



ภาพที่ 16 Emericella rogulosa

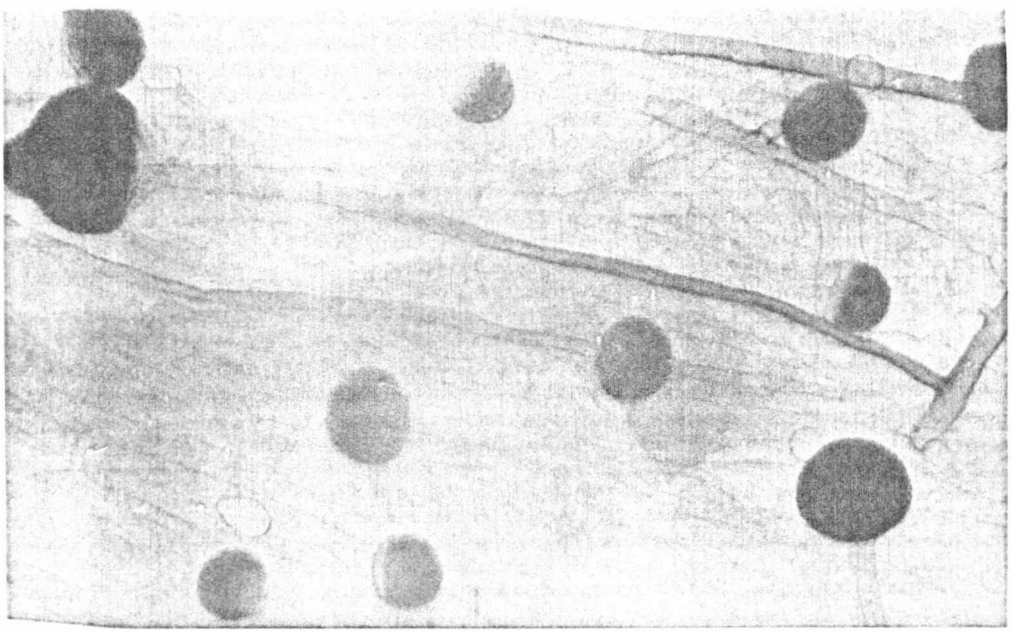


ภาพที่ 17 Fusarium moniliforme



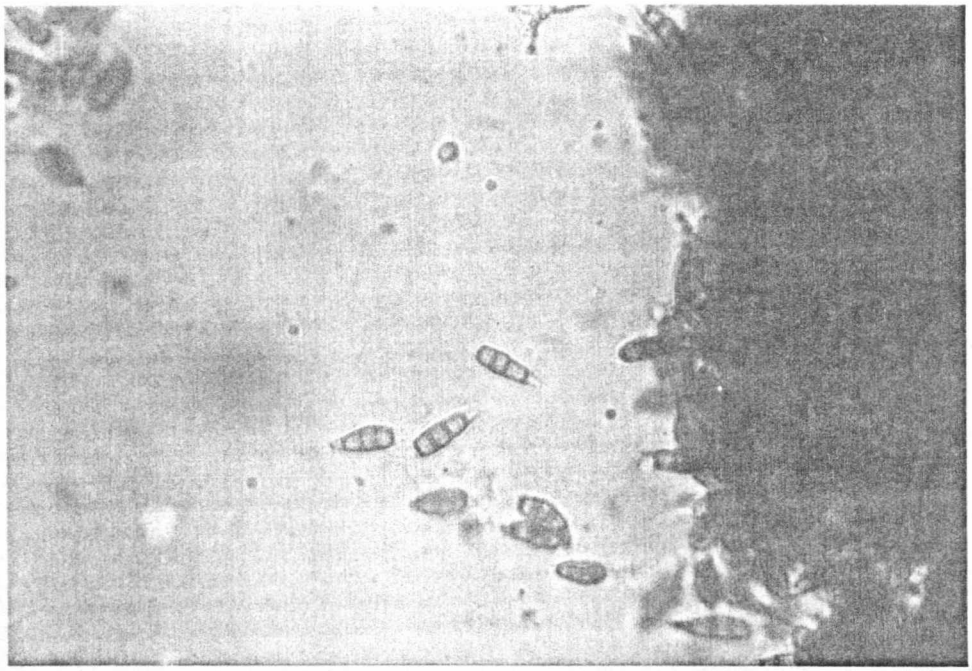
ภาพที่ 18 Fusarium solani

ภาพที่ 19 Fusarium tricinctum

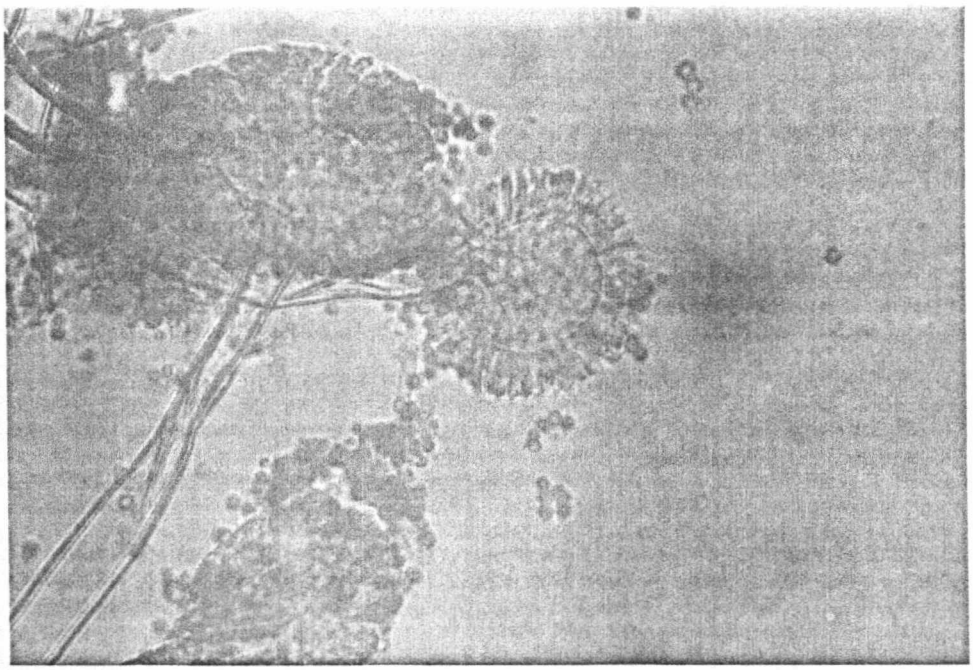


ภาพที่ 20 Mucor sp.

ภาพที่ 21 Penicillium nigricans

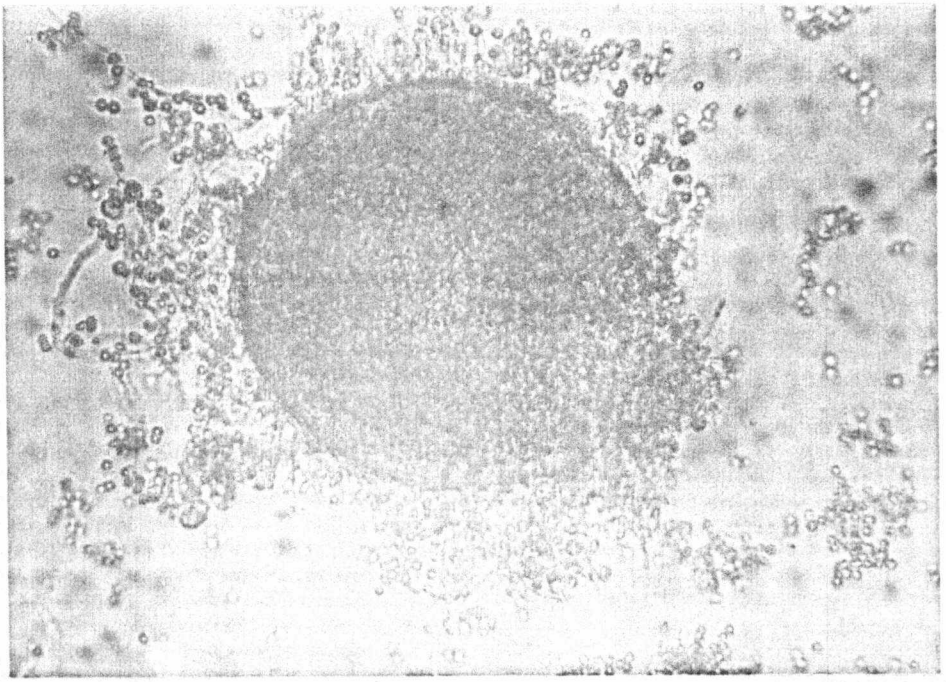


ภาพที่ 22 Pestalotia sp.

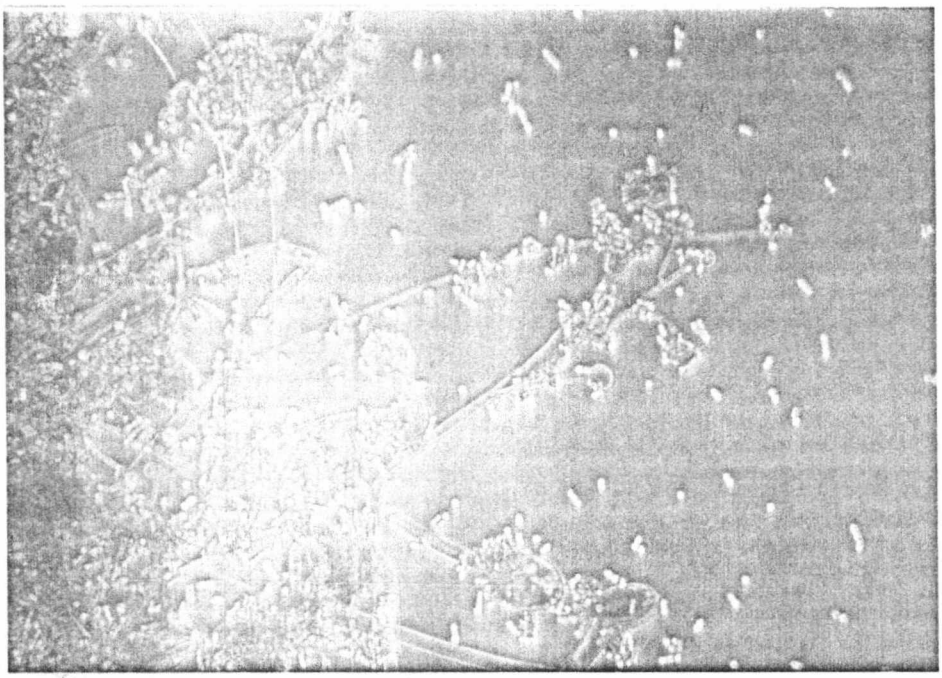


ภาพที่ 23 Rhizopus arrhizus

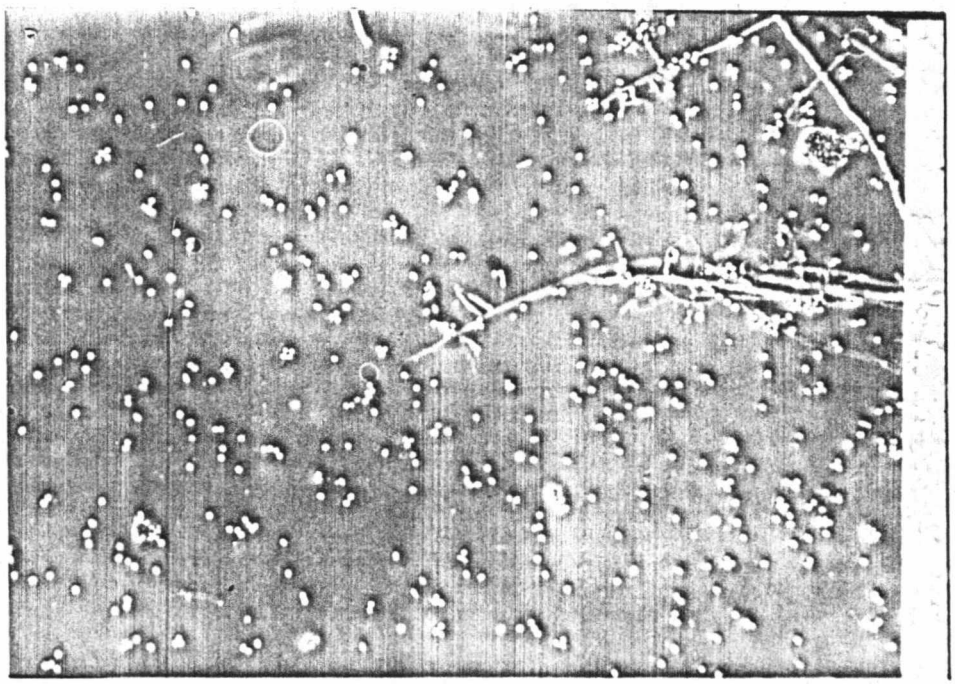
ภาพที่ 24 Rhizopus oligosporus



ภาพที่ 25 Sartoya fumigata



ภาพที่ 26 Syncephalastrum racemosum



ภาพที่ 27 Trichoderma viride

ภาพที่ 28 Torula sp.

วิจารณ์

ในการศึกษาการแยกราจากดินบริเวณแปลงพืชสวน โดยวิธี Soil plate นี้ อาจจะไม่สามารถแยกเชื้อราทุกชนิดที่มีอยู่จริงในธรรมชาติได้ทั้งหมด ถึงแม้ว่าในการทำ soil plate นั้นการกระจายตัวด้านนิเวศน์วิทยาของราจะมีมากกว่า เนื่องจากสปอร์จะอยู่เป็นกลุ่ม และเส้นใยของราติดอยู่กับอนุภาคของดิน (Johnson และ Curl, 1972) และนอกจากนี้ในการทดลองนี้ใช้อาหารในการแยกเชื้อราชนิดเดียวเท่านั้น คือ Kafman Agar ซึ่งไม่อาจแยกราทุกชนิดในธรรมชาติได้ เนื่องจากในการแยกราจากดินนั้น การใช้ selective media ในการแยกราจากดิน จะมีสูตรโดยเฉพาะในการแยกราแต่ละชนิด ซึ่งอาจกล่าวได้ว่ายังเป็นปัญหาที่จะต้องศึกษาทางด้านการใช้ Artificial substrate ที่เหมาะสม (Menzites, 1963)

จากการแยกราจากดินบริเวณรากพืช แปลงพืชสวน ได้แก่ มะเขือเทศ, ถั่วฝักยาว, ผักบุ้ง, ข้าวโพดฝักอ่อน, หน่อไม้ฝรั่ง, กระเจี๊ยบ, กุหลาบ, มะลิ, องุ่นทะเล ปาล์ม ต่าง ๆ มะม่วงและกล้วย พบรา Aspergillus flaviceps, A. fumigatus, A.flavus A. glaucus ซึ่ง sparrow และ Sussman, 1973 แยกได้รานี้จากดินเช่นกัน Absidia corymbifera, Cunninghamella echinulata และ C. verticillate ซึ่งราทั้งสาม species ดังกล่าว บงกช (2528) นั้นแยกได้รานี้จากดินสวนยางพารา พริก และดินแปลงพืชไร่ตามลำดับ รา Curvularia lunata ที่พบจากการทดลองนี้นั้น เคยมีรายงานของ Aroba และ Dwivedi, 1978 เคยแยกราชนิดนี้ได้จากดินบริเวณรอบรากพืช Lens esculenta รา Cladosporium sp. ที่พบจากดินปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ซึ่ง Cole และ Kendrick, 1981 แยกพบได้จากดินเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบรา Fusarium solani ซึ่งแยกได้จากดินปลูกหน่อไม้ฝรั่ง กะหล่ำปลีและกล้วย ในขณะที่ สิริวิภา (2526) แยกราชนิดนี้ได้จากดินบริเวณรอบรากส้มเขียวหวาน

สำหรับรา Mucor sp. ซึ่งแยกได้จากดินแปลงปลูกถุหลาบ รา Penicillium nigricans แยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ ข้าวโพดฝักอ่อน และปาล์มทาลแดง และรา Trichoderma viride ซึ่งแยกได้จากดินปลูก มะเขือเทศ, ปาล์มและกล้วย ซึ่งราทั้งสามชนิดดังกล่าวเคยมีรายงานว่าแยกได้จากดินเช่นกัน,(Cole และ Kendrick, 1981)นอกจากนี้ยังแยกได้รา A. nidulans, A. ochraceus, A. terreus, Alternaria alternata, Chaetomium sp., Choanephora cucurbitarum, Emericella rogulosa, F. moniliforme, F. tricinctum, Pestalotia sp., Rhizopus arrhizus, R. oligosporus, Sartoya fumigata, Syncephalastrum racemosum และ Torula sp.

ราที่พบหลาย species อาจมีผลทำให้เกิดโรคกับพืชได้แก่ Aspergillus spp., Alternaria alternata, Curvularia lunata เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ มิได้วัดปริมาณของสปอร์หรือ inoculum ของรา ฉะนั้นในแง่ของราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกับพืชหรือกับระบบรากพืชนั้น ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีกได้แก่สิ่งแวดล้อมของดิน ความง่ายต่อการเกิดโรคของพืชอาศัย ความแข็งแรงของเชื้อโรคที่เข้าทำลาย รวมถึงระยะเวลาที่เหมาะสม (Menzites, 1963) ฉะนั้นในการทดลองครั้งนี้ อาจชี้ให้เห็นได้ว่ามีราหลายชนิด ที่อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชที่จะปลูกในบริเวณแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถ้าปัจจัยร่วมอื่น ๆ ในการทำให้เกิดโรคอยู่ในสภาพเหมาะสมต่อการเกิดโรคดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

สรุป

จากการศึกษาแยกราจากดินบริเวณแปลงพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง พบราทั้งสิ้น 18 genera 28 species กระจายอยู่ทั่วไปในดิน โดยเฉพาะในดินบริเวณแปลงพืชผัก ซึ่งปลูกมะเขือเทศ ถั่วฝักยาว ผักบุ้ง ข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ฝรั่งและกระเจี๊ยบ พบรา Absidia corymbifera, Alternaria alternata, Aspergillus flaviceps, A. flavus, A. fumigatus, A. glaucus, A. nidulans, A. ochraceus, A. terreus, Chaetomium sp., Choanephora, cucurbitarum, Cladosporium sp., Cunninghamella verticillate, Curvularia Lunata, Emericella rogulosa, Fusasium moniliforme, F. solani, F. tricinctum, Mucor sp., Penicillium nigricans, Rhizopus arrhizus, R. oligosporus, Sartoya fumigata, Syncephalastrum racemosum, Trichoderma virideและ Torula sp.

ดินบริเวณแปลงปลูกไม้ดอกไม้ประดับ ซึ่งปลูก มะลิ องุ่นทะเล ปาล์มต่าง ๆ และไผ่ พบรา A. flaviceps, A. fumigatus, A. ochraceus, A. terreus, C. cucurbitarum, C. echinulata, C. lunata, F. moniliforme, F. tricinctum F. Solani, Mucor sp, P. nigricans, Pestalotia sp. และ Syncephalastrum racemosum

ดินบริเวณแปลงไม้ผลซึ่งปลูก มะม่วงและกล้วยพบรา A. nidulans, C. echinulata, F. solani, S. fumigata, S. racemosum และ T. viride เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

สิริวิภา โพธิ์หน่อเงิน. 2526. การแยกราในดินบริเวณรากส้มเขียวหวานที่เป็นโรครากเน่าและการคัดเลือกต้นส้มที่ต้านทานต่อเชื้อรา Phytophthora parasitica Dustur. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

บงกช สุวรรณฑัต. 2528. การศึกษาราดินจากมูลสัตว์ วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Aroba, D.K. and R.S. Dwivedi. 1978. Rhizophere fungi of Lens esculenta antagonistic to Sclerotium rolfsii. Soil Biol. Biochem. 11:563-566.

Cole, G.T. and Kendrick, B. 1981. Biology. Biology of Conidial fungi. Academic Press. London 486 p.

Gillman, J.C. 1957. Ananual of Soil fungi. Ames: The Iowa State University Press. 450 p.

Hesseltine, C.W. and J.J. Eillis. 1973. Nores on the Choanephoraceae. Mycologia. 49 : 723 - 733

Johnson, L.F. and E.A. Curl 1972. Methods for Research and Ecology of Soil-Borne. Plant Pathogens. Minneapolis : Burgress Publish. Company.

Menzies, J.D. 1963. The direct assay of plant pathogen populations in in soil. Annual Review of Phytophthology Vol. I. Annual Reviews, Inc. Pols Alto, Colifornia. 127 - 141.

Parakinson, D. and A. Thomas. 1965. A Comparision of Methods for the Isolation of fungi from Rhizopheres. Can. J. Microbial 11 : 1001 - 1007.

Russel, R.S. 1977. Plant Root System. Berkshire England:McGraw-Hill Book Company 298 p.

Sparrow and Sussman. 1978. The fungi an Advanced Treatise. Vol. IV 13. New York Academic Press.

Warcup, J.H. 1950. The Soil-Plate method for Isolation of fungi from Soil. Nature 166 : 117 - 118.

Wongseenin, P. and M. Sundhagul. 1973. Soil and Root Fungi in Sakaerat dry evergreen Forest. Kasetsart. J. 7. 109 - 116.

ภาคผนวก

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหาร

1. อาหารสำหรับแยกราจากดินของ Kafman และคณะ ปี 1963 สูตรที่ 3

กลูโคส	100	กรัม
เปปโตน	50	กรัม
KH_2PO_4 (monobasic)	1.0	กรัม
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.5	กรัม
rose bengal	33.0	กรัม
Streptomycin	30.0	กรัม
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นแล้วนึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำภายใต้ความดัน 11 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเวลา 15 นาที

2. Potato Dextose Agar

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextose	20	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Czapek's Agar

$NaNo_3$	3	กรัม
K_2HPo_4	1	กรัม
$MgSO_4\ 7H_2O$	0.5	กรัม
HCl	0.5	กรัม
$FeSO_4\ 7H_2o$	0.01	กรัม
Sucrose	30	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดมารวมกัน หลอมให้ละลายนำไปบรรจุใส่ขวดนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งไอน้ำ ด้วยความดัน 15 ปอนด์นาน 15 – 20 นาที