

การควบคุมโดยชีววิธีและการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน

BIOLOGICAL CONTROL AND INTEGRATED DISEASE
MANAGEMENT OF CITRUS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาความหลักสุตรปริญญาวิตกาศตรมหานัฒ หิศ
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ท.ศ. 2544

ISBN 974-648-054-5

การควบคุมโดยชีววิธีและการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน

BIOLOGICAL CONTROL AND INTEGRATED DISEASE
MANAGEMENT OF CITRUS



พรพรรณ อู่สุวรรณ
PORNPAN USUWAN

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....39758
จน, เดือน, ปี 2 1 ส.ศ. 2544

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2544

ISBN 974-648-054-5

b.....
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOLOGICAL CONTROL AND INTEGRATED DISEASE
MANAGEMENT OF CITRUS



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

2001

ISBN 974-648-054-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2001

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การควบคุมโดยชีววิธี และการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน
BIOLOGICAL CONTROL AND INTEGRATED DISEASE
MANAGEMENT OF CITRUS

ชื่อนักศึกษา

นางสาวพรพรรณ อู่สุวรรณ

รหัสประจำตัว

38065303

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.เกษม

สร้อยทอง

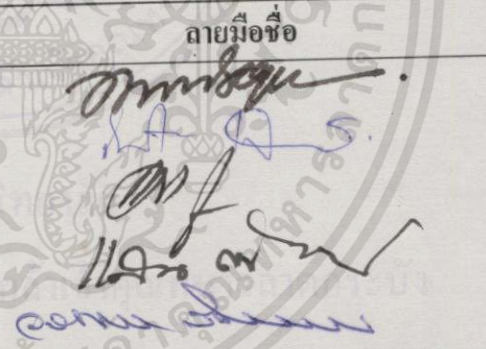
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม

ผศ.ดร.ถนิมนันต์

เจนอักษร

ผศ.ดร.วิรัตน์

ภูวิวัฒน์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง	
ผศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร	
ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์	
รศ.ดร.แสน ดิกวิฒนานนท์	
รศ.ดร.วรเดช จันทร์สาร	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 31 กรกฎาคม 2543 เวลา 9.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องประชุม คณะเทคโนโลยีการเกษตร ชั้น 1 ห้อง 1

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว


(รศ.ดร.บุญวิวัฒน์ อัคร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 19 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2544

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การควบคุมโดยชีววิธีและการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน
นักศึกษา	นางสาวพรพรรณ อู่สุวรรณ
รหัสประจำตัว	38065303
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
พ.ศ.	2544

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร ผศ.ดร. วิรัตน์ ภูวิวัฒน์

บทคัดย่อ

จากการสำรวจการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานที่มีอายุ 7 ปี ที่ไร่อายุจนศักดิ์ อำเภอบพพระ จังหวัดตาก ที่มีพื้นที่ปลูกจำนวน 40 ไร่ พบระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 กล่าวคือลักษณะต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กงอและลายแสดงอาการขาดธาตุ Zn ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโรคแอนแทรคโนส พบว่ามีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3 กล่าวคือพบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม จากการแยกเชื้อจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค และดินบริเวณต้นที่เกิดอาการโรค พบเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญได้แก่เชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสจำนวน 11 isolates โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อนำมาจำแนกความแตกต่างระหว่าง isolate โดยเทคนิคทางเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส พบว่าเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ P202, P203, P102 และ P103 กลุ่มที่ 2 มี 1 isolate ได้แก่ P101 และกลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ P201 สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates สามารถจัดกลุ่มออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยกันคือ กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ CFLS041, CFLS063, CFFS023, CFFS061, CFLS064 และ CFLS052 กลุ่มที่ 2 มี 3 isolates ได้แก่ CFLS013, CFFS042 และ CFFS012 กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS012 และกลุ่มที่ 4 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS031 ซึ่งเมื่อนำเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบและผลของส้มเขียวหวาน พบว่า *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด จากการทดสอบการเกิดโรคร่วมกันของเชื้อสาเหตุทั้งสองชนิดดัง

กล่าว โดยปลูกเชื้อสาเหตุร่วมกันบนต้นกล้าจากกิ่งตอนส้มเขียวหวาน อายุ 3 เดือน ในกระถาง ทดลอง พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ การปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุโรค เพียงชนิดเดียว

จากการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ เชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 และเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Chaetomium globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด ที่ระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อไว้ในที่อุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่าเชื้อ ราทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเมื่อทำการทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 4 ชนิด ใน การควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 โดยวิธี bi-culture บนอาหารที่เหมาะสมข้างต้น พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการ เจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดี และจากการศึกษากลไกการควบคุมโรค พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ *C. gloeosporioides* CFLS012 ทำให้เส้นใยแตกหัก ส่วนเชื้อ *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC สร้างสารปฏิชีวนะทำลายเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ *C. gloeosporioides* CFLS012

จากการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) และ Chaetoglobosin C (สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum*) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ในการควบคุมเชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าสารสกัดจากจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ได้ดีที่ระดับความ เข้มข้น 500 ppm

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลอง โดยใช้ดินปลูกที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างๆ กัน พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, ชนิดเม็ด อัตรา 10 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน ร่วมกับการฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน ร่วมกับการฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ การใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดอัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน ร่วมกับการฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 2.5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ใช้สารเคมี

carbendazim ฉีดพ่นบนใบส้ม และ metalaxyl ราดลงดิน สามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนสได้แตกต่างกันตามสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินที่ใช้ปลูก นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน มีผลต่อปริมาณเชื้อก่อโรคและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนสของส้มเขียวหวาน ในแปลงทดลองที่พบการระบาดของโรคมาก่อน โดยการใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 10 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้นส้ม ใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น การใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ เพียงอย่างเดียว ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น (control) พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* สามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกคโนสได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ เพียงอย่างเดียว แต่การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 วิธีการ ไม่มีความแตกต่างกันในการลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนส ผลต่อ เนื่องจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทำให้ปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Thesis Title	Biological control and integrated disease management of citrus
Student	Miss Pornpan Usuwan
Student ID.	38065303
Degree	Master of Science
Programme	Plant Pest Management Technology
Year	2001
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Kasem Soyong
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Tanimnun Jeanaksorn Asst. Prof. Dr. Wirat Phuwiwat

ABSTRACT

Root rot, basal stem rot and anthracnose of 7 years old tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) in the epidemic area was surveyed at The Kanjanasak Orchard, Tak province covering the total planted area of 40 rai. The disease prevalence of root and basal stem rot was averaged 3.43. The infected plants showed decreasing growth, the new leaves were small and showing Zn-deficiency, die back and root rot approximately 26-50 percent. The disease incidence of anthracnose was averaged 3 disease level, found on the leaves or fruits at 21-40 percent of the canopy. The causal agents isolated from the infected plants and rhizosphere were identified as *Phytophthora parasitica* (6 isolates) for the root and basal stem rot disease and *Colletotrichum gloeosporioides* (11 isolates) for the anthracnose disease. According to molecular biological method using SDS-PAGE technique, the 6 isolates of *P. parasitica* were divided into 3 groups, based on the cluster analysis of protein bands, as follows : Group 1, 4 isolates e.g., P202, P203, P102 and P103; Group 2, 1 isolate, e.g., P101 and Group 3, 1 isolate, e.g., P201. For *C. gloeosporioides*, 11 isolates were divided into 4 groups : Group 1, 6 isolates, e.g., CFLS041, CFLS063, CFFS023, CFFS061, CFLS064 and CFLS052; Group 2, 3 isolates e.g., CFLS013, CFFS042 and CFFS012; Group 3, 1 isolate, e.g., CFLS012 and Group 4, 1 isolate, e.g., CFLS031.

All isolates had been proved for pathogenicity tests on the leaves and fruits of sweet orange. It was found that *P. parasitica* P101 and *C. gloeosporioides* CFLS012 had

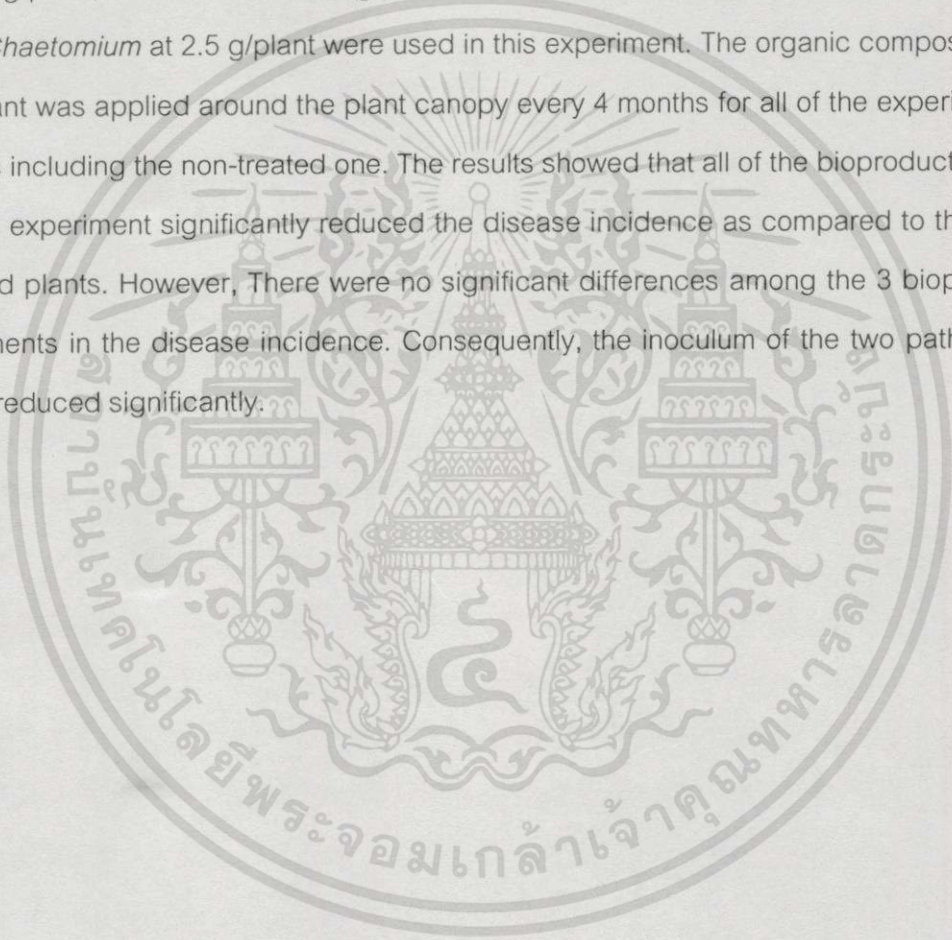
shown to be the most virulence isolates and gave the highest disease incidence. The dual pathogenicity test between the *P. parasitica* P101 and *C. gloeosporioides* CFLS012 of 3 months old seedlings in pot experiment showed the highest disease incidence as compared to its of the single pathogen infection. Growth requirements of *P. parasitica* P101, *C. gloeosporioides* CFLS012 as well as the microbial antagonists *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Chaetomium globosum* CG and *Ch. cupreum* CC were tested on different agars, pH levels, and incubation temperatures. It was shown that all isolates grew and produced spores very well on potato dextrose agar at 30 °C, pH 7. In bi-culture test between *P. parasitica* P101, *C. gloeosporioides* CFLS012 and 4 microbial antagonists, it showed that all tested microbial antagonists could significantly inhibit the mycelial growth and spore production of the two tested pathogens. The control mechanism of *T. harzianum* PC01 and *T. hamatum* PC02 were proved under microscopy implying hyphal interference. On the other hand, *Ch. globosum* CG and *Ch. cupreum* CC were proved to produce and release the antagonistic substances which lysed the hypha of *P. parasitica* P101 and *C. gloeosporioides* CFLS012 implying antibiosis.

Crude extracts from microbial antagonists of *T. harzianum* (using EtOAc), *T. harzianum* (using Hexane), *T. harzianum* (using MeOH), *T. hamatum* (using MeOH), *Ch. globosum* (using Hexane), *Ch. cupreum* (using Hexane) and Chaetoglobosin C (pure compound from *Ch. globosum*) at 0, 10, 50, 100 and 500 ppm were tested for controlling *P. parasitica* P101 and *C. gloeosporioides* CFLS012. All tested crude extracts and Chaetoglobosin C at the concentration of 500 ppm gave significantly highest inhibition of mycelial and spore production of the tested pathogens.

Biological control of root and basal stem rot and anthracnose of sweet orange in pot experiment was conducted by using the bioproducts of the microbial antagonists, (*Trichoderma* and *Chaetomium*), at different soil pH levels. *Trichoderma* pellets at 10 g/plant applying every 4 months to the soil and spraying powder formulation at 20 g/20 liters of water every 2 weeks, *Chaetomium* pellets 5 g/plant applying every 4 months to the soil and spraying powder formulation at 20 g/20 liters of water every 2 weeks, combination of *Trichoderma* and *Chaetomium* by using *Trichoderma* pellets at 5 g/plant every 4 months and spraying powder formulation at 20 g/20 liters of water every 2 week

together with *Chaetomium* pellets at 5 g/plant applying to the soil and spraying powder formulation at 20 g/20 liters of water every 2 weeks. The biological treatments were compared with chemical fungicides, spraying carbendazim on the leaves and applied metalaxyl to the soil. Results showed that the biological treatments could reduce the incidence of disease interaction.

Application of bioproducts of *Trichoderma* and *Chaetomium* for controlling the root and basal stem rot and anthracnose was conducted in the infested field. *Trichoderma* at 10 g/plant, *Chaetomium* at 5 g/plant and combination of *Trichoderma* at 5 g/plant and *Chaetomium* at 2.5 g/plant were used in this experiment. The organic compost at 10 kg/plant was applied around the plant canopy every 4 months for all of the experimental plants including the non-treated one. The results showed that all of the bioproducts used in this experiment significantly reduced the disease incidence as compared to the non-treated plants. However, There were no significant differences among the 3 bioproduct treatments in the disease incidence. Consequently, the inoculum of the two pathogens were reduced significantly.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ต้องขอขอบพระคุณ รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร และ ผศ.ดร. วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำ ชี้แนะและคำปรึกษา ในด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมเดช กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้อนุเคราะห์ สารสกัดจากจุลินทรีย์ เพื่อทำการทดลอง ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. สุพร นุชดำรงค์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความรู้เรื่อง electrophoresis

ขอขอบพระคุณเจ้าของไร่กาญจนศักดิ์ ที่อนุเคราะห์สวนส้มเขียวหวาน และความช่วยเหลือด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ ในครั้งนี้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ คุณวีระศักดิ์ วิสวระโท ที่ให้ความช่วยเหลือในการเดินทางเพื่อทำวิทยานิพนธ์ ที่จังหวัดตาก

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตี๊กเห็ดราวิทยา เพื่อนๆ ทุกคน และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโททุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ด้วยดี

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเงินทุนการศึกษา และกำลังใจ จนประสบความสำเร็จในครั้งนี้

พรพรรณ อุสุวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IV
กิตติกรรมประกาศ.....	VII
สารบัญ.....	VIII
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญภาพ.....	XV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มา.....	1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	5
โรคและแมลงที่สำคัญ.....	6
การควบคุมโรคโดยชีววิธีแบบผสมผสาน.....	9
การใช้เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. ควบคุมโรคพืชในประเทศไทย.....	10
การใช้เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. ควบคุมโรคพืชในต่างประเทศ.....	12
การใช้เชื้อ <i>Chaetomium</i> spp. ควบคุมโรคพืชในประเทศไทย.....	13
การใช้เชื้อ <i>Chaetomium</i> spp. ควบคุมโรคพืชในต่างประเทศ.....	15
การใช้จุลินทรีย์อื่นๆ ควบคุมโรคพืช.....	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	18
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	31
4.1 การศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน.....	31
4.2 การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดต่างและอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้าน.....	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม.....	97
4.4 การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน.....	109
4.5 การประเมินประสิทธิภาพการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> ในสภาพเรือนทดลองและแปลงทดลอง.....	127
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย.....	149
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	159
เอกสารอ้างอิง.....	163
ภาคผนวก.....	170
ภาคผนวก ก สูตรสารละลาย.....	171
ผลงานวิจัยที่ลงพิมพ์.....	173
ประวัติผู้เขียน.....	180

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงพื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในแต่ละภาคในปีการเพาะปลูก 2537.....	1
1.2 แสดงพื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในแต่ละภาคในปีการเพาะปลูก 2536.....	2
4.1 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนสของส้มเขียวหวาน ก่อนทำการทดลองโดยใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> ช่วงเดือน เมษายน 2540.....	32
4.2 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0.....	54
4.3 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0.....	57
4.4 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลองที่อายุ 30 วัน.....	64
4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P101 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	68
4.6 ปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> Dust isolate P101 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	69
4.7 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sacc. isolate CFLS 012 บนอาหารที่มีระดับ pH ต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิที่ต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	73
4.8 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sacc. isolate CFLS 012 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	74
4.9 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	78
4.10 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	79
4.11 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC02 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC 02 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	84
4.13 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	88
4.14 ปริมาณการสร้างจำนวน ascospore ของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 30 วัน.....	89
4.15 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกันและบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 6 วัน.....	93
4.16 ปริมาณการสร้างจำนวน ascospore ของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกันที่อายุ 30 วัน.....	94
4.17 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH7.....	98
4.18 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH7.....	98
4.19 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการสร้าง oospore ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH7.....	99
4.20 อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ EtoAC) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	109
4.21 อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ EtoAC) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia, oospore ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่อายุ 7 วัน.....	110
4.22 อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	112
4.23 อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่ อายุ 7 วัน.....	112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
4.24	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	114
4.25	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma harizianum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่ อายุ 7 วัน.....	114
4.26	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma hamatum</i> (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	116
4.27	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Trichoderma hamatum</i> (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ ที่ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 อายุ 7 วัน.....	116
4.28	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Chaetomium globosum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	118
4.29	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Chaetomium globosum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ ที่ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 อายุ 7 วัน.....	118
4.30	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Chaetomium cupreum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	119
4.31	อิทธิพลของสารสกัดจาก <i>Chaetomium cupreum</i> (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่ อายุ 7 วัน.....	120
4.32	อิทธิพลของสารสกัด Chaetoglobosin C สารปฏิชีวนะที่สกัดจาก <i>Chaetomium globosum</i> ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 ที่ อายุ 7 วัน.....	121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญัตราสาร (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.33	อิทธิพลของสารสกัด Chaetoglobosin C สารปฏิชีวนะที่สกัดจาก <i>Chaetomium globosum</i> ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia และ oospore ของเชื้อที่ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่อายุ 7 วัน.....	122
4.34	ค่า ED ₅₀ ของสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012.....	122
4.35	ค่า ED ₅₀ ของสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101.....	124
4.36	ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ที่ปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101 และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในเรือนทดลอง.....	129
4.37	ระดับการเกิดโรคร่วม(disease complex)ของโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ที่ปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101 และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในเรือนทดลอง.....	132
4.38	แสดงปริมาณเชื้อก่อโรค <i>Phytophthora parasitica</i> P101 และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS 012 หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> และการใช้สารเคมี เป็นเวลา 4 เดือนในสภาพเรือนทดลอง.....	133
4.39	ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> ภายหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใดในสภาพแปลงทดลอง.....	136
4.40	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในแปลงทดลอง หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ ของเชื้อ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> ป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ ในสภาพแปลงทดลอง.....	136
4.41	ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ภายหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใดในสภาพแปลงทดลอง.....	137

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
4.42	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> ป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ ในสภาพแปลงทดลอง.....	137
4.43	ระดับการเกิดโรคร่วม (disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora parasitaca</i> และ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ภายหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> และ <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใดในสภาพแปลงทดลอง.....	139
4.44	เปอร์เซ็นต์ Colonization ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitaca</i> ต่อต้น 20 กรัม ที่ระดับความลึก 15 ซม. ก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> , <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลองช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541.....	140
4.45	เปอร์เซ็นต์ Colonization ของเชื้อ <i>Phytophthora parasitaca</i> ต่อต้น 20 กรัม ที่ระดับความลึก 30 ซม. ก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> , <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลองช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541.....	140
4.46	ปริมาณ Colony forming unit ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ต่อต้น 1 กรัม. ที่ระดับความลึก 15 ซม. ก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> , <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลองช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541.....	141
4.47	ปริมาณ Colony forming unit ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ต่อต้น 1 กรัม ที่ระดับความลึก 30 ซม. ก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> , <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลองช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541.....	142
4.48	การเจริญทางด้านผลผลิตของส้มเขียวหวาน ภายหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> , <i>Chaetomium</i> เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด (control) ในสภาพแปลงทดลอง.....	148

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 แสดงลักษณะอาการโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> Dastur.....	33
4.2 แสดงลักษณะอาการของผลส้มเขียวหวานที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	33
4.3 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P101.....	35
4.4 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P102.....	36
4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P103.....	37
4.6 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P201.....	38
4.7 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P202.....	39
4.8 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolate P203.....	40
4.9 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFSS 061.....	41
4.10 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFSS 012.....	42
4.11 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFSS 063.....	43
4.12 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFSS 064.....	44
4.13 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFSS 042.....	45
4.14 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 023.....	46
4.15 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 012.....	47
4.16 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 013.....	48
4.17 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 041.....	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.18 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 052.....	50
4.19 การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolate CFLS 031.....	51
4.20 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> isolates ต่าง ๆ โดยเทคนิค SPSS-PAGE	53
4.21 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> isolates ต่าง ๆ	54
4.22 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolates ต่าง ๆ โดยเทคนิค SPSS-PAGE.....	56
4.23 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> isolates ต่าง ๆ.....	57
4.24 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> แต่ละ isolates โดยการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบ และผลส้มเขียวหวาน หลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน.....	59
4.25 ลักษณะอาการของโรคที่ 7 วันหลังทำการปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> แต่ละ isolates ลงบนใบส้มเขียวหวาน.....	59
4.26 ลักษณะอาการของโรคที่ 7 วันหลังทำการปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> แต่ละ isolates ลงบนผลส้มเขียวหวาน.....	60
4.27 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> แต่ละ isolates โดยการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบ และผลส้มเขียวหวาน หลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน.....	61
4.28 ลักษณะอาการของโรคที่ 7 วันหลังทำการปลูกเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> แต่ละ isolates ลงบนใบส้มเขียวหวาน.....	62
4.29 ลักษณะอาการของโรคที่ 7 วันหลังทำการปลูกเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> แต่ละ isolates ลงบนผลส้มเขียวหวาน.....	62
4.30 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคร่วมของส้มเขียวหวานหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 และเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ได้ 30 วัน.....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.31	ลักษณะอาการโรคบนใบส้มเขียวหวานจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค ร่วมกันของส้มเขียวหวานหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 และเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ได้ 30 วัน.....	65
4.32	ลักษณะอาการโรครากเน่าจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคร่วมกันของส้ม เขียวหวานหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 และเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ได้ 30 วัน.....	66
4.33	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี ระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	70
4.34	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี ระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	70
4.35	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี ระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	71
4.36	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี ระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	71
4.37	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 บนอาหารเลี้ยง เชื้อ ที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	75
4.38	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 บนอาหารเลี้ยง เชื้อ ที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	75
4.39	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 บนอาหารเลี้ยง เชื้อ ที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	76
4.40	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 บนอาหารเลี้ยง เชื้อ ที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	76
4.41	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	80

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.42	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	80
4.43	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	81
4.44	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	81
4.45	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	85
4.46	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	85
4.47	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	86
4.48	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Trichoderma hamatum</i> PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	86
4.49	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	90
4.50	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	90
4.51	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	91
4.52	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	91
4.53	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	95
4.54	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	95
4.55	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา XVIII ตัวอย่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

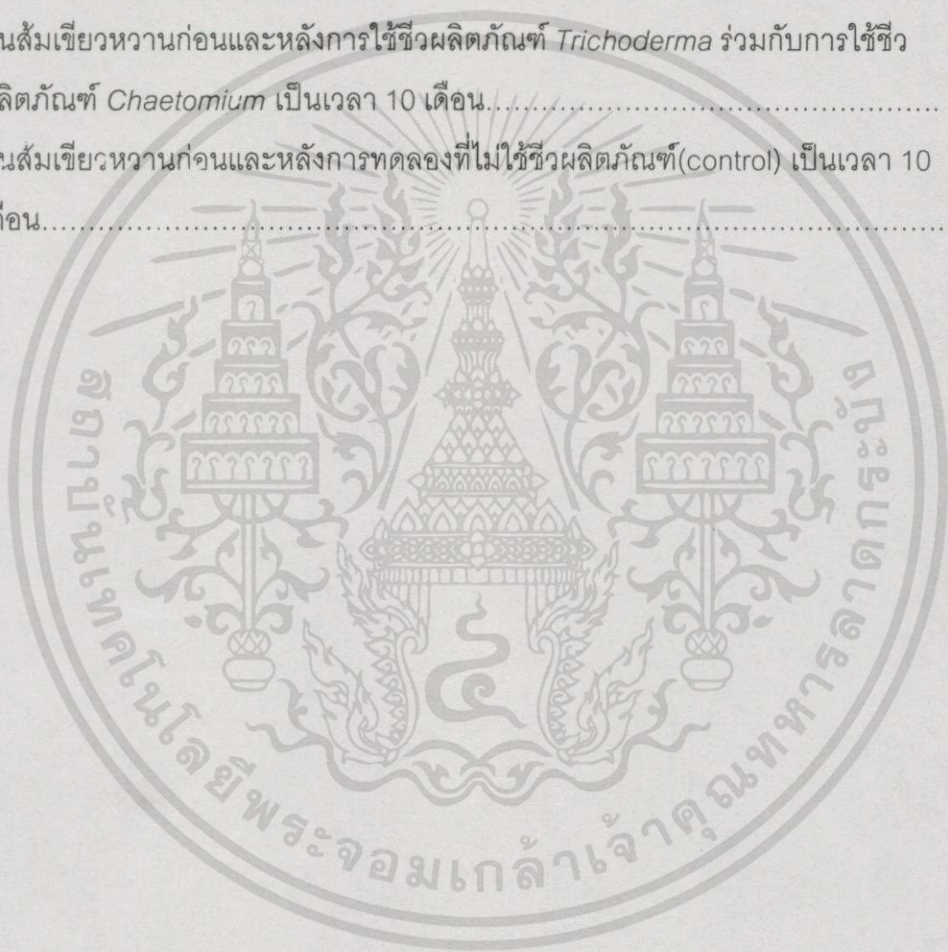
สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.56	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน.....	96
4.57	แสดงอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	100
4.58	แสดงอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส.....	101
4.59	แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> P01 กับเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101	102
4.60	แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา <i>Trichoderma hamatum</i> P02 กับเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101.....	103
4.61	แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> P01 กับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012.....	104
4.62	แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา <i>Trichoderma hamatum</i> P02 กับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012.....	105
4.63	แสดงปฏิกริยาของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG กับเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101	106
4.64	แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา <i>Chaetomium cupreum</i> CC กับเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101	107
4.65	แสดงปฏิกริยาของเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> CG กับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012	108
4.66	แสดงปฏิกริยาของเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> CC กับเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012	108
4.67	การทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> CFLS012 ที่มีผลต่ออายุ 7 วัน	125

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.68 การทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> P101 ที่มีผลต่ออายุ 7 วัน	126
4.69 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> เป็นเวลา 10 เดือน	143
4.70 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium</i> เป็นเวลา 10 เดือน	144
4.71 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma</i> ร่วมกับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Chaetomium</i> เป็นเวลา 10 เดือน.....	145
4.72 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการทดลองที่ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์(control) เป็นเวลา 10 เดือน.....	146



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคของบุคคลทั่วไป ส้มเขียวหวานเป็นพืชที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าไม้ผลชนิดอื่นๆ และได้รับความสนใจจากเกษตรกรเป็นอย่างมาก ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานอยู่ทั่วไป พบว่าแหล่งปลูกส้มเขียวหวานที่สำคัญ ภาคกลางได้แก่ จังหวัดปทุมธานี สระบุรี นครนายก พระนครศรีอยุธยา สมุทรปราการ กรุงเทพฯ ราชบุรี และสุโขทัย ทางภาคเหนือที่จังหวัดแพร่ น่าน และเชียงใหม่ ทางภาคใต้ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา และยะลา ทางภาคตะวันออกที่จังหวัดจันทบุรี และตราด (เอียน, 2536) ในปีการเพาะปลูก 2537 มีพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานรวมทั้งประเทศ 221,520 ไร่ เมื่อแยกพื้นที่เพาะปลูกในแต่ละภาครวมพื้นที่เพาะปลูกที่ให้ผลผลิตแล้ว และพื้นที่ที่ยังไม่ให้ผลผลิต พบว่าภาคเหนือมีพื้นที่เพาะปลูก 36,640 ไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่เพาะปลูก 113 ไร่ ภาคกลางมีพื้นที่เพาะปลูก 152,375 ไร่ ภาคตะวันออกมีพื้นที่เพาะปลูก 19,222 ไร่ ภาคตะวันตกมีพื้นที่เพาะปลูก 3,802 ไร่ ภาคใต้มีพื้นที่เพาะปลูก 9,368 ไร่ (ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร, 2540) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปีการเพาะปลูกในปี พ.ศ. 2536 พบว่าผลผลิตส้มเขียวหวานทั้งประเทศมีปริมาณลดลง ดังแสดงในตารางที่ 1.1 และ 1.2

ตารางที่ 1.1 แสดงพื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในแต่ละภาคในปีการเพาะปลูก 2537

ภาค	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ (กก.)	ผลผลิตรวม (ตัน)
	ให้ผลแล้ว	ยังไม่ให้ผล	รวม		
เหนือ	24,640	12,000	36,640	3,341	82,330
ตะวันออกเฉียงเหนือ	60	53	113	363	22
กลาง	118,585	33,790	152,375	3,652	433,184
ตะวันออก	17,389	1,833	19,222	2,839	49,376
ตะวันตก	3,732	70	3,802	2,228	8,318
ใต้	7,651	1,717	9,368	1,439	11,015
รวมทั้งประเทศ	172,057	49,463	221,520	3,395	584,245

ที่มา : ฝ่ายวิเคราะห์ข้อมูลส่งเสริมการเกษตร 2540

ตารางที่ 1.2 แสดงพื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในแต่ละภาคในปีการเพาะปลูก 2536

ภาค	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ (กก.)	ผลผลิตรวม (ตัน)
	ให้ผลแล้ว	ยังไม่ให้ผล	รวม		
เหนือ	25,983	12,765	38,748	3,358	87,256
ตะวันออกเฉียงเหนือ	42	67	109	661	28
กลาง	117,428	32,060	149,488	3,603	423,208
ตะวันออก	27,055	4,432	31,487	2,558	69,222
ตะวันตก	5,926	225	6,151	2,598	15,397
ใต้	11,464	1,647	13,111	1,277	14,642
รวมทั้งประเทศ	187,898	51,196	239,094	3,245	609,753

ที่มา : ฝ่ายวิเคราะห์ข้อมูลส่งเสริมการเกษตร 2536

จากพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานดังกล่าวจะเห็นว่ามีจำนวนมากที่ไม่ประสบผลสำเร็จในการทำสวนส้ม ซึ่งมีสาเหตุมาจากการใช้ดินพันธุ์ที่ไม่ดี การเขตกรรมไม่เหมาะสมอย่างเช่น การเตรียมดิน การปรับปรุงบำรุงดิน การปฏิบัติดูแลรักษา และปัญหาที่สำคัญ คือปัญหาศัตรูพืช ได้แก่ แมลงศัตรูพืช และโรคพืช ไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคกรีนนิ่ง โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคแคงเกอร์ หรือโรคที่เกิดจากเชื้อรา เช่น โรคเมลานอส โรคสแค๊ป โรคแอนแทรคโนส โรคราสีชมพู และโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งพบว่าโรคที่ทำความเสียหายทางเศรษฐกิจ ได้แก่ โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dust. ซึ่งมีรายงานว่าระบาดทำความเสียหายในแหล่งปลูกส้มทั่วไป ปีหนึ่งๆ พบการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้มเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะส้มเขียวหวาน อย่างในเขตภาคกลาง พบที่อำเภอบางมด รังสิต และบ้านแพ้ว ภาคเหนือพบที่แพร่ และน่าน และภาคใต้พบที่ ยะลา สงขลา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และชุมพร เป็นต้น (สาคร, ม.ป.พ) ซึ่งมีผลทำให้ส้มตายทั้งสวนได้ นอกจากนี้ยังมีโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz.&Sacc. ซึ่งเข้าทำลายส่วนของใบและผล ทำให้ผลส้มแตกและร่วงหล่นเป็นจำนวนมาก ปัญหาโรคส้มดังกล่าวเกษตรกรใช้วิธีการป้องกันกำจัดโรค โดยใช้สารเคมีฆ่าเชื้อรา ติดต่อกันมานานไม่ต่ำกว่า 30 ปี มีผลทำให้เชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวดื้อยา เมื่อเกษตรกรไม่สามารถควบคุมโรคดังกล่าวโดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราอย่างได้ผล ทำให้ต้นส้มโทรม เนื่องจากเกิดโรคและบางแห่งมีผลให้ต้นส้มตายได้ การนำเอาวิธีการควบคุมโรคพืชโดยการจัดการโรคพืชแบบผสมผสานโดยเน้นการใช้ชีววิธีน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะอาการของโรคและลักษณะของเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โรคแอนแทรคโนส ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* รวมถึงการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity tests)

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราที่มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Trichoderma harzianum* PC01, *Trichoderma hamatum* PC02, *Chaetomium globosum* CG, *Chaetomium cupreum* CC ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.2.4 เพื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรค ได้แก่ เชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.2.5 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ของ *Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคของส้มในเรือนทดลองและในสภาพแปลงปลูก

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

โดยทำการวิจัยเพื่อหาแนวทางการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) ในการควบคุมป้องกันโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ *Colletotrichum* spp. รวมถึงการศึกษาลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส และลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรค รวมถึงความแตกต่างระหว่าง isolates โดยใช้เทคนิค isozyme การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี bi-culture test รวมถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค การศึกษาประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ของ

เชื้อรา *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส
ของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลองและในภาคสนาม

สถานที่ทำการศึกษาดลอง

ห้องปฏิบัติการราวิทยา ตึกเห็ดรา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการ
เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ไร่ส้มกาญจนศักดิ์ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก

ระยะเวลาทำการศึกษาดลอง เดือน เมษายน 2540-เดือน พฤษภาคม 2543



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ส้มเขียวหวาน (Tangerine) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco ซึ่งพบว่าตระกูลส้มมีจำนวน 130 สกุล และ 1,500 ชนิด พบในแถบหนาวและแถบกึ่งร้อนของซีกโลกเหนือและได้ส่วนใหญ่มีการกระจายตัวอยู่ในประเทศอัฟริกาตอนใต้และออสเตรเลีย ส้มเขียวหวานสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน เป็นไม้ผลที่มีทรงพุ่มขนาดกลาง มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 4-8 เมตร ทรงพุ่มมีลักษณะแน่นทึบ ส้มเขียวหวานมีทรงต้นสูงประมาณ 2-8 เมตร ลำต้นไม่มีหนาม กิ่งแก่มีสีเขียวเข้ม ไม่มีขน มีรอยแผลเป็นของใบ และต่อมน้ำมันกระจายอยู่ทั่วไป ลักษณะของกิ่งอ่อนเป็นเหลี่ยมเรียว (สาคร, ม.ป.พ., ไชยา, 2531) ใบเป็นรูปไข่ค่อนข้างยาวหรือรูปโล่หรือรูปหอก ปลายและฐานใบมีลักษณะมน ส่วนปลายสุดของใบมีรอยเว้าเข้า ผิวท้องใบมีสีเขียวอมเหลือง ผิวหลังใบเป็นมันสีเขียวเข้ม ตัวใบมีกลิ่น ก้านใบมีปีกแคบหรือไม่มีปีก สีเขียวอมเหลือง ใบมีขนาดเล็กบาง ดอกมีขนาดเล็ก ขนาดของดอกตูมมีความยาว 0.5-0.7 เซนติเมตร ดอกบานมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร ส่วนของกลีบดอก ดอกมีสีขาว และมีต่อมน้ำมันกระจายอยู่ แต่ละดอกจะมีจำนวนเกสรตัวผู้อยู่ในลักษณะแยกกันประมาณ 18-23 อัน ออกดอกในตำแหน่งซอกใบ เป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อ ผลมีรูปร่างกลมแบน ผิวเปลือกสีเขียวอมเหลือง หรือส้มอมเหลือง จนถึงแดงอมส้ม ลักษณะของผิวเปลือกจะเรียบมีต่อมน้ำมันอยู่ภายใน ส่วนเปลือกบางมีความหนาประมาณ 0.2-0.3 เซนติเมตร มีกลิ่นหอมแรง เปลือกด้านในมีสีเขียวอ่อน ภายในหนึ่งผลประกอบด้วยกลีบผลจำนวน 10-15 กลีบ แต่ละกลีบมีผนังบาง เนื้อมีน้ำมาก สีส้มรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ก้านผลมีขนาดสั้น ขนาดผลแตกต่างกันเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-8 เซนติเมตร และยาว 4-7 เซนติเมตร เมล็ดมีรูปร่างแบบรูปไข่หัวกลับ เนื้อเยื่อส่วนสะสมอาหารมีสีเขียวอ่อน หรือสีเขียวอมเหลืองจำนวนเมล็ดมีมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละกลีบ (เปรมปรี, 2538) สภาพดินฟ้าอากาศที่แตกต่างกันลักษณะของส้มก็ต่างกันไป เช่นส้มที่ปลูกอยู่ในภาคเหนือจะมีสีเขียวเข้ม และแดงเรื่อๆ แต่ส้มที่ปลูกในแถบทางภาคกลาง แม้สุกดีแล้วก็ยังมีสีเขียวปนอยู่ แต่การปลูกเป็นการค้าจริงจางนั้นเริ่มขึ้นเมื่อ 70 กว่าปีที่ผ่านมา แหล่งปลูกแรกสุดที่ ตำบลบางมด จังหวัดปทุมธานี ปัจจุบันพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานกระจายอยู่ทั่วไปในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ (เจียน, 2536)

2.2 โรคและแมลงที่สำคัญ

ปัจจุบันผลผลิตส้มในประเทศไทยค่อนข้างต่ำมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งส้มเขียวหวานสามารถผลิตได้เพียง 3,000 กิโลกรัมต่อไร่ อีกทั้งคุณภาพไม่ดีพอ ในการประกอบอาชีพทำสวนส้มนั้น เกษตรกรที่จะเป็นนักปลูกส้มที่ดีต้องมีการวางแผนการปฏิบัติดูแลรักษาที่ดี โดยเฉพาะในเรื่องการป้องกันและกำจัดโรคและแมลง ปัจจุบันพบว่าเกษตรกรเจ้าของสวนส้มประสบความล้มเหลวในการทำสวนส้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้จากสภาพดินฟ้าอากาศในประเทศไทยเหมาะในการทำสวนส้มก็จริง แต่สภาพต่างๆ ก็เหมาะสมในการเจริญเติบโตขยายพันธุ์และการแพร่ระบาดของโรคและแมลงศัตรูส้มด้วย นอกจากนี้สภาพแวดล้อมต่างๆ ก็เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันพบว่าแมลงศัตรูส้มในประเทศไทยมีมากกว่า 100 ชนิด และโรคส้มมากกว่า 30 โรค พืชตระกูลส้มนับเป็นไม้ผลที่มีโรคและแมลงมากที่สุดพืชหนึ่ง (สาคร, ม.ป.พ) ปัญหาศัตรูพืชในการปลูกส้ม สามารถแบ่งได้เป็นเรื่องของโรค แมลงและวัชพืชรังต่อไปนี้

2.2.1 โรค เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น จากการต้องเสียค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดโรค โรคของส้มเขียวหวานที่มีความสำคัญในประเทศไทยได้แก่ โรคทริสเทซา โรคแคงเกอร์ โรคเมลานอส โรคสแค๊ป โรคแอนแทรคโนส โรคราสีชมพู และโรครากเน่าโคนเน่า และโรคอื่นๆ รวมทั้งโรคขาดธาตุอาหาร

2.2.1.1 โรครากเน่าโคนเน่าของส้ม เป็นโรคเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ที่ทำความเสียหายให้กับส้มมากที่สุดในประเทศไทย เพราะเชื้อราสาเหตุโรคอาศัยอยู่ในดินและน้ำตามเศษซากพืชที่หักตัวอยู่ได้เป็นเวลานาน เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็ระบาดได้ใหม่ (วิจิตรและคณะ, ม.ป.พ) ในปีหนึ่งๆ พบการระบาดทั่วไปตามแหล่งปลูกส้มโดยเฉพาะส้มเขียวหวาน เช่น ในเขตภาคกลาง พบที่ ตำบลบางมด รังสิต จังหวัดปทุมธานี ภาคเหนือ พบที่แพร่ และน่าน เป็นต้น เชื้อสาเหตุของโรสดังกล่าวเป็นเชื้อราที่อยู่ในดิน ชอบสภาพดินแฉะ อุณหภูมิประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส สามารถแพร่ระบาดโดยติดไปกับดินและน้ำ ลักษณะอาการที่ใบเริ่มด้วยบริเวณเส้นกลางใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ต่อมาใบจะเหลืองทั้งใบ เหี่ยว และกิ่งจะแห้ง ต้นส้มจะโทรม ผลส้มจะเป็นสีเหลืองร่วงหล่นไป เมื่อขุดรากดูพบว่ารากมีอาการเน่า ส่วนเปลือกจะเน่าเป็นสีน้ำตาลเสียหายรุนแรง ในที่สุดต้นส้มจะโทรมและตาย (เปรมปรี, 2538) หากเชื้อเข้าทำลายบริเวณโคนต้นบริเวณดังกล่าวจะแสดงอาการเป็นจุดดำๆ และกลายเป็นแผลสีน้ำตาล แผลจะลุกลามไปเรื่อยๆ จนมีขนาดใหญ่ หรือรอบลำต้น ถ้าอากาศชื้นมากๆ จะพบเชื้อราสีขาวเกาะตามบริเวณแผลและอาจพบอาการยางไหลตรงบริเวณรอยแผล (ไชยา, 2531)

2.2.1.2. โรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แพร่ระบาดในฤดูฝน ลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบ เป็นจุดสีน้ำตาล จุดแผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง

กลาง 0.5-1 เซนติเมตร รอบๆ จุดแผลมีสีน้ำตาลเข้ม พื้นใบบริเวณรอบขอบแผลมีสีเหลืองแผ่กระจายรอบๆ แผล และจะพบตุ่มเล็กๆ เท่าหัวเข็มหมุดสีดำ นูนเด่น เรียงต่อเนื่องเป็นวงโดยรอบซ้อนกันอยู่เหมือนวงแหวน ตุ่มนูนดังกล่าวเป็นแหล่งกำเนิดของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่ออุณหภูมิและความชื้นพอเหมาะการระบาดของโรคจะมากขึ้น (เอียน, 2536) อาการที่ผล บริเวณที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเป็นจุดสีน้ำตาลถึงดำ และขยายวงกว้างอย่างช้าๆ เนื้อเยื่อบริเวณแผลฉ่ำน้ำและผลอาจแตกออกหรือเกิดการยุบตัวลง ถ้าเชื้อเข้าทำลายบริเวณขั้วผลเป็นสาเหตุทำให้ผลร่วงก่อนกำหนดทำให้ผลผลิตลดลง

2.2.1.3 โรคแคงเกอร์หรือโรคขี้กลากของส้มสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye. ระบาดในฤดูฝนได้รุนแรงและหากมีहनอนชอนใบส้มควบคู่กัน การแพร่กระจายของโรคจะกว้างขวางขึ้น ในช่วงที่ส้มออกใบอ่อนและติดผลในขณะที่มีฝนตกชุก การระบาดของโรคจะรุนแรงมาก ลักษณะอาการบนใบ ระยะแรกจะเป็นจุดกลมสีขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดมีสีซีดกว่าสีใบปกติ ต่อมาจะกลายเป็นจุดสีเหลืองอ่อน และแผลจะขยายใหญ่โตขึ้น แผลอาจเกิดเพียงด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของใบ แผลรูปร่างกลมรอบๆ แผลจะเป็นสีเหลือง ภายในแผลสีน้ำตาล เป็นตุ่มนูนเด่นชัด ลักษณะขรุขระเล็กน้อย เมื่อใบส้มแก่ขึ้นตรงกลางแผลจะยุบลงเป็นแผลตกละเกิด ขอบแผลมีสีเหลือง โดยทั่วไปมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-1 เซนติเมตร อาการบนกิ่งก้าน มักจะเกิดกับกิ่งอ่อนก่อน แผลที่เกิดในระยะแรกจะมีสีเหลืองและนูนฟูคล้ายที่ใบ ต่อมาแผลจะแห้งแข็งเป็นสีน้ำตาล และลุกลามออกไปรอบกิ่งหรือตามความยาวของกิ่ง หรือลุกลามออกไปเชื่อมต่อกับแผลอื่นๆ จนมีขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างไม่แน่นอน และไม่มีวงแหวนสีเหลือง อาการบนผล มีลักษณะอาการคล้ายกับที่พบที่ใบ แผลมีลักษณะนูนคล้ายฟองน้ำ เมื่อผลแก่รอยแผลสีเหลืองก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แผลเกิดเดี่ยวๆ มีลักษณะกลม บริเวณรอบแผลดูคล้ายฝังลึกลงไป ในผล บางครั้งแผลจะเชื่อมติดกันมีขนาดใหญ่ ทำให้เกิดอาการผลแตกเป็นสะเก็ดรูปร่างไม่แน่นอน หากแกะสะเก็ดออกจะมียางไหล ลักษณะสีเหลืองซีด ขอบวงโดยรอบแผลจะไม่เด่นชัดเท่ากับแผลบนใบ (เอียน, 2536)

2.2.1.4 โรคมีลาโนส (Melanose) เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อรา ซึ่งแยกได้ 3 ประเภท ดังนี้
1. โรคมีลาโนส เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis citri* (*Diaporthe citri*) 2. โรคกรีซีมีลาโนส (greasy melanose) และใบเปื้อนเหลืองเกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. หรือ *Mycosphaerella* sp. 3. โรคมีลาโนสรูปดาว (star melanose) เกิดจากการปนสารเคมีที่มีธาตุทองแดงเป็นองค์ประกอบในอัตราที่เข้มข้นเกินไปและพ่นบ่อยเกินไปทำให้แผลของโรคมีลาโนส แข็งและแตกออกเป็นแฉก

2.2.1.5 โรคราสีชมพู เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Corticium salmonicolor* ลักษณะอาการเกิดขึ้นที่กิ่งโดยเฉพาะตรงโคนแยกของกิ่ง เชื้อราทำลายเปลือกเห็นปรากฏเหมือนมีสีชาวมชมพูไปทาเคลือบผิวไว้ เชื้อราแพร่เจริญลุกลามรวดเร็วตามกิ่งและลำต้น ทั้งกิ่งเล็ก กิ่งใหญ่ ปรากฏ

เห็นเชื้อราชัดเจนเป็นสีชมพู เชื้อราขึ้นลูกกลมตามใบและผลที่ติดอยู่บริเวณกิ่งที่เป็นโรค ทำให้ ผุเน่า กิ่งที่ถูกทำลายใบจะแห้งเหี่ยวและร่วง กิ่งแห้งตายจะมีเชื้อราเกาะอยู่โดยรอบกิ่ง มีสีชมพู กิ่งผุเปราะหักง่าย ทั้งนี้เป็นเพราะเนื้อเยื่อส่วนนั้นถูกเชื้อเข้าทำลายโดยสร้างเป็นรากเทียมไซซอนเข้าไปทำลายเซลล์ของเนื้อเยื่อเกิดเน่าและแห้งตายไป(เอียน, 2536)

2.2.1.6 โรคขาดธาตุอาหาร ต้นส้มที่ได้รับธาตุอาหารไม่ครบถ้วน หรือไม่ได้สัดส่วน การเจริญก็ย่อมไม่เป็นไปตามปกติหรือไม่สมบูรณ์เต็มที่ การขาดธาตุอาหารจึงมาจากสาเหตุ เช่น ใสไม่ถูกวิธี สภาพดินไม่เหมาะในการละลายหรือดูดซับปุ๋ย หรือความเป็นกรดต่างของดินที่ทำให้ธาตุอาหารบางอย่างถูกนำไปใช้ไม่ได้ ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับส้มหรือพืชทั่วไป มี 16 ธาตุคือ คาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โบรอน แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ทองแดง เหล็ก สังกะสี แมงกานีส โบรอน โมลิบดีนัม คลอรีน ธาตุอาหารเหล่านี้จะถูกนำไปสร้างเป็นอาหารพลังงาน และส่วนประกอบต่างๆ ของส้ม ทั้งในส่วนที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต ส้มที่ได้ธาตุอาหารอย่างเพียงพอและได้สัดส่วนก็จะเจริญงอกงาม แข็งแรงผลติดออกผลที่สมบูรณ์ และมีคุณภาพดี ถ้าหากขาดจะแสดงอาการผิดปกติไป (เอียน, 2536)

2.2.2 แมลง แมลงศัตรูส้มที่สำคัญแบ่งเป็น 6 อันดับ ได้แก่ Thysanoptera, Homoptera, Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera และ Diptera ซึ่งประกอบด้วยแมลงศัตรู 23 ชนิด และความสำคัญของแมลงที่เป็นศัตรูส้มจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกและชนิดของส้มด้วย สำหรับแมลงศัตรูส้มที่พบทำความเสียหายให้กับส้มทุกชนิดและทุกแหล่งปลูกมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น เพลี้ยไฟพริก หนอนขนใบส้ม เพลี้ยไก่อแจ้ส้ม หนอนแก้วส้ม เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ยแป้ง เป็นต้น แมลงศัตรูที่สำคัญที่สุดของส้มทุกชนิดและพบระบาดเป็นประจำในทุกแหล่งปลูกส้ม ได้แก่ หนอนขนใบ เพลี้ยไฟพริก และเพลี้ยไก่อแจ้ส้ม (ชลิตา, 2538)

2.2.3 วัชพืช ปัญหาที่เกิดจากวัชพืชจะแตกต่างกันไป การปรากฏและความหนาแน่นของวัชพืชในไร่หนึ่งเป็นผลที่ได้มาจากความเป็นมาของพื้นที่นั้น และความสามารถของวัชพืชที่จะแพร่ขยายออกไป ขึ้นอยู่กับสภาพดินฟ้าอากาศ ความแตกต่างกันในเรื่องดิน น้ำและความรบกวนของสภาพท้องถิ่นและวิธีการเขตกรรมล้วนแต่มีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของวัชพืชแต่ละชนิด เกษตรกรต้องมีระบบการควบคุมกำจัดวัชพืชที่ถูกต้องเหมาะสม จึงจะช่วยให้ส้มที่ปลูกมีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่สม่ำเสมอ และออกดอกผลตามกำหนดปัญหาของวัชพืชคือ เป็นที่อยู่อาศัยของโรคและ แมลง แยกน้ำ อาหาร ลิ่นเปลือยค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัด ทำให้ไม่สะดวกในการปฏิบัติงานในสวน ทำให้ผลผลิตของส้มลดลงได้ วัชพืชมีความแตกต่างกัน บางชนิดมีอายุยืนหลายปี บางชนิดมีชีพจักรการเจริญเติบโตเพียง 2 – 3 เดือน ก็ล้มตาย นอกจากนี้การแพร่กระจายพันธุ์ก็แตกต่างกันไป เช่นอาจขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด หรือส่วนต่างๆ ของลำต้น วัชพืชโดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่วัชพืชล้มลุก เป็นพวกมีวงจรชีวิตในฤดูเดียวจึงง่ายต่อการกำจัด มีเมล็ดมาก และงอกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดี เจริญเติบโตเร็ว ทั้งยังมีชีวิตยืนงอยอยู่ในดินลึกๆ การที่จะกำจัดให้หมดจึงไม่ใช่เรื่องง่าย เช่น หนุ่ชาจวบ หนุ่ชาตีนกบ หนุ่ชาตีนตุ๊กแก ผักโขม สาบแรังสาบกา และวัชพืชยืนต้น วัชพืชประเภทนี้สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งทางเมล็ด และส่วนอื่น เช่น ราก เหง้า ไหลใต้ดิน ได้แก่ หนุ่ชาคา แห้วหมู หนุ่ชาชันกาด เป็นต้น ซึ่งวัชพืชประเภทนี้ขยายพันธุ์ได้ดี จึงเป็นปัญหาสำคัญในการกำจัด ยากกว่าวัชพืชประเภทแรก (บรรพต, 2525)

2.3 การควบคุมโรคโดยชีววิธีแบบผสมผสาน

การทำเกษตรที่ผ่านมามุ่งใช้เทคโนโลยีทางด้านสารเคมีมาตลอด เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ให้เพียงพอต่อประชากรโลกที่มีปริมาณเพิ่มสูง ซึ่งวิธีการใช้เทคโนโลยีดังกล่าวมิใช่หนทางแก้ปัญหาก็เหมาะสมระยะยาว อย่างเช่น การใช้เครื่องจักรกลทันสมัย การใช้ปุ๋ยเคมี และการป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างเต็มที่มีผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อม และก่อให้เกิดปัญหาทางธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ได้ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อโรคพืชเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะยาฆ่าเชื้อรา ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มนุษย์และสัตว์ สารเคมีเป็นพิษตกค้างในสภาวะแวดล้อม ในผลิตผลเกษตร มีผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ ฉะนั้นจึงมีการวิจัยค้นคว้าหาวิธีอื่นในการควบคุมโรค เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี สมคิด (2540) กล่าวว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างขาดความระมัดระวัง นอกจากจะเป็นปัญหาโดยตรงต่อผู้ใช้แล้ว ยังก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นปัญหาของสังคมโดยรวมอย่างชัดเจน ดังนั้นการจัดการหรือการควบคุมศัตรูพืชมิให้แพร่ระบาดก่อให้เกิดความเสียหายในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นเลือกสรรกรรมวิธีที่เหมาะสมมาผสมผสานและปฏิบัติ เพื่อให้ได้ผลกำไรที่สูงสุดคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ และไม่กระทบกระเทือน(ทำลาย) สิ่งแวดล้อม อีกทั้งสังคมยอมรับนำไปปฏิบัติได้ ซึ่งเป็นแนวทางปฏิบัติที่เรียกกันโดยรวมว่า การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (Integrated Pest Management, IPM) การเลือกใช้วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีก็เป็นกรรมวิธีหนึ่งในหลักการ IPM เกษม (2532ก) กล่าวว่า การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือการลดกิจกรรมของการเกิดโรคของเชื้อโรคหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโตหรือระยะพักตัว ด้วยการนำสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามาทำลาย ป้องกันกำจัด เพื่อบรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม พืชอาศัย จุลินทรีย์ต่อต้านหรือด้วยการนำจุลินทรีย์ต่อต้านชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม ปัจจุบันมีการศึกษานำเชื้อราที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonist) มาควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชกันมาก เช่นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Trichoderma* , *Chaetomium* ซึ่งจุลินทรีย์ต่อต้านมีกลไกควบคุมโดยชีววิธี 4 ประเภทด้วยกันคือ 1. ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) และการทำลายเชื้อโรค (lysis) 2. การแข่งขัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารทงสวนวเสสำหรับทงงานเพอการศึกษาเท่านั้น เมอนุญาตให้นำไปใชประยชนดานการค้

ไม่ว่ากรณีใดทงสิ้น อีกทงห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตองอ้างอิงถึงเจ้ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งกันและกัน (competition) 3. ขบวนการของปรสิต (parasitism) และสัตว์ที่กินสิ่งมีชีวิตอื่นเป็นอาหาร และ 4. การขัดขวางการเจริญของเส้นใย (hyphal interference) สำหรับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคพืชได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางทั้งในประเทศและต่างประเทศ

2.4 การใช้เชื้อ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย

จิระเดชและคณะ (2538) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกับสารเคมี metalaxyl เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Bacillus* (B-03) และแบคทีเรียแกรมลบ (UB-164) ในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวาน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โดยการเตรียมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ผสมกับรำ ปุ๋ยอินทรีย์ และทราย เตรียมแบคทีเรียในรูปผงผสมน้ำ โดยนำผงเชื้อ *Trichoderma* spp. โรยบริเวณโคนต้นส้มเขียวหวาน อัตรา 20 กรัมต่อต้น เปรียบเทียบกับการใช้ผงเชื้อแบคทีเรียผสมน้ำในอัตรา 5 กรัมต่อ 200 มิลลิลิตรต่อต้น เทราดบริเวณโคนต้น พบว่าการใช้ผงเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ร่วมกับสารเคมี metalaxyl เข้มข้น 2500 ppm. มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค โดยพบการเกิดโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวานเพียง 5.5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ control ซึ่งใส่แต่เชื้อ *P. parasitica* อย่างเดียวเกิดโรค 63.9 เปอร์เซ็นต์ กรณีของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า *Bacillus* sp.(B-03) มีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีไม่แตกต่างจากการใช้เชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) หรือสารเคมี metalaxyl ที่ความเข้มข้น 5000 ppm.

สุณิรัตน์และคณะ (2540) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (Cn-Pin-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสภาพแปลง จังหวัดปทุมธานี โดยการหว่านส่วนผสมของผงเชื้อรา *T. harzianum* กับรำข้าว และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:4:10 โดยน้ำหนัก ลงบริเวณใต้ทรงพุ่มของส้ม อัตรา 100 กรัมต่อตารางเมตร รวม 4 ครั้ง ในช่วง 24 เดือน พบว่าปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* ที่ตรวจพบในดินมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น 120-165 เท่า ส่วนเชื้อรา *P. parasitica* จะมีปริมาณลดต่ำลงและส่งผลให้ค่าความสมบูรณ์ของดินสูงขึ้นด้วย เมื่อใช้น้ำผสมผงเชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) ฉีดพ่นลงดินบริเวณใต้ทรงพุ่มต้นส้มเขียวหวาน อัตรา 100 กรัมต่อต้น รวม 4 ครั้ง ในช่วง 24 เดือน พบว่าปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มสูงขึ้นในขณะที่พบปริมาณเชื้อรา *P. parasitica* ต่ำลงกว่าต้นที่มีได้ควบคุมโดยเชื้อรา *T. harzianum* นอกจากนี้จิระเดชและคณะ (2540) ได้นำส่วนผสมของผงเชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) กับรำ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:4:10 โดยน้ำหนัก หว่านบริเวณใต้ทรงพุ่มของทุเรียน ในอัตรา 50 กรัมต่อตารางเมตร เพื่อควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

palmivora สาเหตุโรครากเน่าของทุเรียนในสภาพสวน พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* ที่ตรวจพบในดินซึ่งหว่านด้วยส่วนผสมของเชื้อเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับการฉีดพ่นสารเคมี metalaxyl บริเวณใต้ทรงพุ่ม อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรต่อต้น หรือฉีดพ่นด้วยสารบำรุงพืชอัตรา 20 ลิตรต่อต้น มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นทุกกรรมวิธี ซึ่งมีปริมาณแตกต่างจากการไม่ใช้เชื้อ *T. harzianum* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการตรวจนับปริมาณเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธีใช้ใบทุเรียนเป็นเหยื่อล่อ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ช่วยลดปริมาณเชื้อรา *P. palmivora* ลดลง

สนชัย (2540) ทดสอบศักยภาพของ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA กับเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* PC01 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 76.77 เปอร์เซ็นต์ และ *T. hamatum* PC02 ยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 71.38 เปอร์เซ็นต์ และได้้นำยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา Mycofungicide ชนิดเม็ด ได้แก่ *Trichoderma* (PC01+PC02) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนพันธุ์ชะนี อายุ 1 ปี ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด อัตรา 10 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ 85 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพไร่การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดชนิดเม็ด *Trichoderma* ในอัตรา 80 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคได้ 68.78 เปอร์เซ็นต์ ในปีแรก และ 80.60 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 2

สุมิตร (2540) ทดสอบการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจาก *T. harzianum* ป้องกันโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ ในแปลงทดลอง จังหวัดชลบุรี พบว่าในแปลงที่ใช้ *Trichoderma* สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสได้ 79.88 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ 81.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ที่ฉีดพ่นสลับกันทุก 7 วัน ซึ่งพบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 50.16 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ 23.83 เปอร์เซ็นต์

พินิจ (2542) รายงานว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. palmivora* MF3 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี bi-culture ได้ 78.45 และ 77.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบศักยภาพของยาเชื้อ *Trichoderma* (PC01+PC02) ชนิดเม็ดในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยในเรือนทดลอง พบว่า *Trichoderma* ชนิดเม็ด อัตรา 20 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคได้ 58.33 เปอร์เซ็นต์ และมีผลให้ปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง เท่ากับ 54.76 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl มีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 22.61 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่

ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มมากขึ้น และพบว่ายาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 10.94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 21.88 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การไม่ใช้วิธีการใด (control) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 71.63 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพแปลงทดลอง

2.5 การใช้ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ

Smith et al.(1990) ศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. cactorum* สาเหตุโรค รากและยอดเน่า (root และ crown rots) ของแอปเปิ้ล พบว่าเมื่อใช้ *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* spp. จะทำให้การทำลายที่รากลดลง และการเจริญเติบโตของพืชและน้ำหนักเพิ่มขึ้น

Michereft et al.(1993) ได้ทำการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในข้าวฟ่าง ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum graminicola* ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยการใช้เชื้อ *Trichoderma viride*, *T. aureoviride*, *T. koningii*, *T. harzianum* และ *T. pseudokoningii* พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้งหมดยกเว้นการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. graminicola* ได้

Xu et al. (1993) ได้ใช้เชื้อ *Trichoderma harzianum* T 82 และ *Trichoderma* sp. NF 9 ในการควบคุมเชื้อ *Sclerotium (Cartivium) rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *P. spinosum* และ *Fusarium oxysporum* ในสภาพเรือนทดลอง โดยการคลุกเชื้อ *T. harzianum* T 82 ในดินปลูกแต่ง หลังจากการปลูกเชื้อสาเหตุโรคได้ 20 วัน ปรากฏสามารถยับยั้งเชื้อ *S. rolfsii*, *R. solani* และ *P. aphanidermatum* ได้ 46.5, 28.4 และ 81.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดแต่งที่คลุกด้วยสปอร์แขวนลอยของ *T. harzianum* T 82 หรือ *T. harzianum* NF 9 ช่วยเพิ่มการงอกของเมล็ดแต่งเท่ากับ 14 เปอร์เซ็นต์ และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากการปลูกเชื้อ *S. rolfsii* แล้ว 11 วัน

Chambers and Scott (1995) ใช้ *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium virens* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน *P. cinnamomi* และ *P. citricola* ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าของต้นเกาลัด (Chestnuts) ในออสเตรเลียตอนใต้ โดยแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจากดินได้ 3 isolates คือ *T. hamatum*, *T. pseudokoningii* และ *G. virens* ซึ่ง *Trichoderma* ทั้ง 2 isolates จะยับยั้ง *P. cinnamomi* โดยจะเป็น mycoparasitism จะเข้าไปเจริญและพันรอบเส้นใยของ *Phytophthora* ทั้ง *Trichoderma* ทั้ง 2 isolates และ *G. virens* จะเจริญเข้าปกคลุม *P. cinnamomi* antibiotics ที่ผลิตโดย *T. hamatum* และ *G. virens* จะยับยั้งการเจริญของ *P. cinnamomi* และ *P. citricola* ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 3 isolates สามารถยับยั้งเชื้อ *Phytophthora* ที่เป็นสาเหตุโรคของเกาลัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้า เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lo et al. (1997) ศึกษาการใช้เชื้อรา *T. harzianum* strain 1295-22 ควบคุมเชื้อ *Pythium* สาเหตุโรครากเน่าใน creeping bentgrass โดยใช้วิธีการพ่น conidial suspension และใช้เมล็ดยาเชื้อ พบว่าทั้งสองวิธีสามารถลดการเกิดโรครากเน่าได้ทั้งในสภาพโรงเรือนและในสภาพไร่ และพบว่าประชากรของ *T. harzianum* บริเวณรอบๆ รากพืชมีปริมาณเพิ่มขึ้น 10-100 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ control

2.6 การใช้ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย

เกษม (2532ข) ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคข้าว พบว่า *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pyricularia oryzae*, *Curvularia lunata*, *Drechslera oryzae*, *Fusarium monilliforme*, *Rhizoctonia oryzae* และ *R. solani* ได้ผลดี เมื่อทดสอบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Dual agar culture และจากการทดสอบใช้รา *Ch. cupreum* ควบคุมเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคไหม้ในระยะต้นกล้า โดยการใช้สปอร์ของรา *Ch. cupreum* และ สารสกัดจากรา *Ch. cupreum* คลุกเมล็ดข้าว สามารถช่วยลดการเกิดโรคได้ใกล้เคียงกับการใช้ยาป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท captan

เกษม (2532ค) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่ ด้วยวิธีการ 3 วิธีคือ การใช้สารสกัดจากรา *Ch. cupreum* สปอร์ของรา *Ch. cupreum* ที่ฆ่าให้ตายแล้วโดยใช้ความร้อน และสปอร์ของรา *Ch. cupreum* ที่มีชีวิต เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา Pentachloronitrobenzene (PCNB) และใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าความสูงของข้าวโพดเมื่ออายุ 15, 30, 45 และ 60 วัน จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝักสดทั้งเปลือก น้ำหนักฝักสดเปลือก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าการใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* แม้จะไม่ดีเท่ากับการใช้สารเคมี

เกษม (2534ก) ทดสอบประสิทธิภาพของรา *Chaetomium gracile* ในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยวิธี bi-culture test พบว่า *Ch. gracile* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ 52 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษา antagonism ระหว่างเชื้อรา *Ch. gracile* และเชื้อราสาเหตุโรคพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยวิธี slide bi-culture test พบว่า conidia ของรา *Fusarium* ถูกทำลาย เซลล์แตก

เนื่องจากส่วนของ protoplast ภายในเซลล์จับตัวเป็นก้อน และบางส่วนไหลทะลักออกจากเซลล์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการทดสอบในสภาพเรือนทดลองโดยการใช้สปอร์แขวนลอย และสารสกัดของเชื้อรา *Ch. gracile* ฉีดพ่นลงดินรอบโคนต้นมะเขือเทศ ในสภาพดินที่อบฆ่าเชื้อและดินที่ไม่ได้อบฆ่าเชื้อ สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้ โดยมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับการใช้สารเคมี benzimidazole และให้ผลผลิตดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control

เกษม (2534ข) ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Chaetomium globosum* ในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia lunata* สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคใบจุดของข้าวโพดหวาน โดยวิธีการทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ 74 เปอร์เซ็นต์ และมีบริเวณยับยั้ง 0.4 เซนติเมตร เมื่อทดสอบในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำ 26-27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี และมีแนวโน้มว่าการใช้ *Ch. globosum* มีการเจริญเติบโตของพืชดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control

เกษม (2535) ทดสอบการใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพไร่ พบว่าการใช้ยาเชื้อโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศในแปลงปลูกซึ่งใช้ปุ๋ยหมัก ปรากฏว่ามะเขือเทศมีการเกิดโรคต่ำเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่แปลงมะเขือเทศซึ่งไม่ใช้ยาเชื้อ และไม่ได้ใส่ปุ๋ยหมักมีการเกิดโรค ถึง 28 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าแปลงที่ใช้ยาเชื้อได้ผลผลิตของมะเขือเทศสูงกว่าแปลงที่ไม่ใช้ยาเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

สนชัย (2540) พบว่าการใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนพันธุ์ชะนีที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพเรือนทดลอง ได้ 85 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมี metalaxyl ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ลดการเกิดโรคได้ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบในสภาพไร่ การใช้ *Chaetomium* ในอัตรา 40 กรัมต่อต้น พบว่าในปีแรก ลดการเกิดโรคได้ 76.27 เปอร์เซ็นต์ และ 81.04 เปอร์เซ็นต์ในปีที่สอง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ใช้สารเคมี metalaxyl ในอัตรา 40 กรัมต่อต้น พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 70.95 เปอร์เซ็นต์ ในปีแรก และ 70.52 เปอร์เซ็นต์ในปีที่สอง

สุมิตรา (2540) ทดสอบการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจาก *Chaetomium* spp. ป้องกันโรคแอนแทรกในสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ ในแปลงทดลอง จังหวัดชลบุรี โดยใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* ชนิดเม็ดในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อต้น โดยหว่านรอบโคนต้นทุก 4 เดือน สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกในสได้ 55.93 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ 55.53 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ที่ฉีดพ่นสลับกันทุก 7 วัน พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 50.16 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ 23.83 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าในแปลงทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*

ที่ฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยในปริมาณ 22×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ต้นละ 500 มิลลิลิตร ทุก 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า การเกิดโรคแอนแทรกโนสบนช่อดอกส่วนบนและส่วนล่างลดลง และในระยะเวลาพัฒนาของผลมะม่วงที่มีอายุ 30, 60 และ 90 วัน ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ที่ฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยในปริมาณ 404×10^{10} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตันละ 500 มิลลิลิตร ทุก 30 วัน และแปลงทดลองใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

พินิจ(2542) รายงานว่าเชื้อ *Chaetomium globosum* CG5 และ *Chaetomium cupreum* CC10 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. palmivora* MF3 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี bi-culture ได้ 65.68 และ 63.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบศักยภาพของยาเชื้อ *Chaetomium*(CC5+CC10) ชนิดเม็ดในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยในเรือนทดลอง พบว่า *Chaetomium* ชนิดเม็ดในอัตรา 20 กรัมต่อตัน สามารถลดการเกิดโรคและปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง ได้ 64.58 และ 52.38 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl มีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 22.61 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การไม่ใช้วิธีการใด(control) มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มมากขึ้น เมื่อทดสอบในสภาพแปลงทดลอง พบว่ายาเชื้อ *Chaetomium*(CC5+CC10) ในอัตราส่วน 20 กรัมต่อตัน ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ทุก 4 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 22.66 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) มีเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคเท่ากับ 71.63 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium*(CC5+CC10) เป็นเวลา 1 ปี พริกไทยมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับ การไม่ใช้วิธีการใด(control)

2.7 การใช้ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ

Di-Pietro et al. (1992) พบว่าสารสกัดที่ได้จากเชื้อรา *Chaetomium globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าระดับดินของผักกาดหัว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้ สารสกัดดังกล่าวคือ 2-(buta-1, 3-dienyl) 3-hydroxy-4-(penta-1, 3-dienyl)-tetrahydrofuran (BHT), epidithiadiketopiperazine และ chaetomin นอกจากนี้ Ray and Stewart (1994) พบว่า การใช้ *C. globosum* สามารถควบคุมโรคเน่าสีขาวของหัวหอม (onion white rot) และลดการเกิดโรคได้ 78 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่ามี การสร้างสารปฏิชีวนะในอาหารด้วย ในขณะที่ Amemiya et al. (1994) พบว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากเชื้อรา *C. globosum* คือ Chaetoglobosin A ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้และยับยั้งการเจริญเติบโตได้ในสภาพการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร

Heller and Theiler (1994) ได้ศึกษาถึงการใช้เชื้อ *Ch. globosum*, *Gliocladium virens* และ

T. viride ในการเป็นสารปฏิชีวนะและเป็นเชื้อปราศิตของเชื้อ *Phytophthora* 4 species คือ *P.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cinnamoni, *P. cactorum*, *P. fragariae* และ *P. nicotinae* พบว่า antagonist ทั้งสามชนิดสามารถเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อ *Phytophthora* และสามารถทำลายเซลล์ของเชื้อให้แตกได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารเคมี benlate มีผลทำให้ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านลดลง โดยเมื่อทดสอบใน dual culture พบว่าจุลินทรีย์ต่อต้านลดความสามารถในการควบคุมโรคลงหลังจากถูก treat เป็นเวลา 77 วัน

2.8 การใช้จุลินทรีย์อื่นๆ ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

Duvenhage and Kitz (1993) ทำการควบคุมโรครากเน่าของ อะโวคาโด(avocado) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora cinnamimi* โดยการใช้เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus*, *Aspergillus candidus* และ *Trichoderma hamatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus azotoformans* และ *B. megaterium* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้งหมดสามารถลดการเกิดโรครากเน่าของอะโวคาโดได้

Fang and Tsao (1995a) ทำการควบคุมโรครากเน่าของอะซาเลีย(azalea) และส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora cinnamomi*, *P. citrophthora* และ *P. parasitica* โดยการใช้ *Pythium nunn* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า *P. nunn* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคพืชโดยเส้นใยของ *P. nunn* จะเข้าทำลายในส่วนของเส้นใย sporangia, chlamydo-spore, antheridia และ oogonia ของเชื้อ *Phytophthora* spp. และทำให้พืชมีการเจริญเติบโตและระบบรากของต้นกล้าพืชมีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น

Fang and Tsao (1995b) ได้ศึกษาใช้เชื้อรา *Penicillium funiculosum* ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora cinnamimi*, *P. parasitica* และ *P. citrophthora* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของอะซาเลียและส้มเขียวหวาน โดยการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อ *P. funivulosum* ปริมาณ 4×10^6 – 5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จุ่มรากก่อนทำการปลูกอย่างเดียว พบว่ามีการเจริญของยอดได้สูงที่สุดถึง 70 มิลลิเมตร ไม่แตกต่างจากการใช้ *P. funivulosum* ร่วมกับ *P. parasitica* และพบว่าอัตราการเกิดโรครากเน่าลดลงมากกว่าการใช้เชื้อ *Phytophthora* เพียงอย่างเดียว ซึ่งพบว่าเชื้อ *P. funivulosum* ช่วยยับยั้งการเจริญของ *Phytophthora* ได้ในอะซาเลีย สำหรับในส้มเขียวหวาน พบว่า *P. funivulosum* สามารถช่วยเพิ่มการเจริญของยอดใหม่ได้มากกว่าการใช้ *P. funivulosum* และมีส่วนในการเพิ่มจำนวนรากอ่อน ขึ้นโดยมีรากเฉลี่ยเท่ากับ 27.3 ราก เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ *P. funivulosum* มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 20.3 ราก ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

Hwang and Kim (1995) รายงานการใช้สารปฏิชีวนะ tubercidin ซึ่งสกัดได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces violaceoniger* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides*, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora capsici และ *Magnaporthe grisea* ในต้นพริกทั้งในสภาพแปลงทดลอง และห้องปฏิบัติการ พบว่าสาร tubercidin ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. capsici* และ *M. grisea* ได้ดีกว่า *C. gloeosporioides* ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพเท่ากับหรือมากกว่าการใช้สารเคมี metalaxyl และพบว่า tubercidin ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษ (phytotoxicity) ต่อดันพืชได้

Freitas and Pizzinatto (1997) ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของฝ้ายซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. gossypii* โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescent* และ *Bacillus* sp. ในห้องปฏิบัติการ พบว่าการทดสอบบนอาหาร KING B *P. fluorescent* เกือบทุก isolate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gossypii* ได้ ส่วนการทดสอบบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อ *P. fluorescent* เพียง 2 isolates และ *Bacillus* ทุก isolate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้ สำหรับการทดสอบในโรงเรือนโดยทำการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อโรคพืชลงในเมล็ดและสังเกตการงอก พบว่าในเมล็ดที่มีการปลูกเชื้อ *C. gossypii* จะลดความสามารถในการงอกของเมล็ดลง และ *P. fluorescent* 4 isolates มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าในกรณีที่ไม่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชลงไปเท่านั้น ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเท่านั้น แต่ไม่มีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gossypii*

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

3.1.1 การศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

โดยทำการสำรวจโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ก่อนการทดลองและระหว่างการทดลองทุกเดือน ที่ไร่กาญจนาศักดิ์ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ทำการบันทึกข้อมูลประวัติการปลูกส้ม เช่นพันธุ์ อายุ พื้นที่ปลูก ระยะปลูก การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน สภาพภูมิอากาศ ได้แก่อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิดิน เป็นต้น การบันทึกการเป็นโรคโดยการให้ระดับคะแนนก่อนและหลังการทดลอง

โรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dust. แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็กน้อย ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler et al., 1989)

โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz.& Sacc. แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll et al., 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.1.1 การแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของ ส้มเขียวหวาน

ทำการเก็บตัวอย่างโรคจากต้นส้มเขียวหวานที่แสดงอาการโรค โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชที่มีอาการรากเน่าและโคนเน่า จากสวนส้มที่ทำการทดลอง นำมายังห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อสาเหตุของโรคดังนี้

ก. การแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค โดยการใช้ส่วนที่เป็นโรค เช่น เปลือกบริเวณโคนต้นหรือรากที่แสดงอาการเน่า มาทำการแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplant บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ผสม BNPR (Benomyl 10 ug/ml, Nystatin 50 ug/ml, Pentachloronitrobenzene 25 ug/ml, Rifampin 10 ug/ml และ Ampicillin 500 ug/ml (Suzui *et al.*, 1976)) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เมื่อพบเส้นใยเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของพืชจึงย้ายบริเวณขอบโคโลนีไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเชื้อบริสุทธิ์ทุก isolates ที่แยกได้เก็บไว้ใน PDA slant เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ข. การแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากที่เป็นโรค โดยใช้เหยื่อล่อ (baiting) นำตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นส้มที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่า ที่ความลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตรจากระดับผิวน้ำดิน นำดินใส่ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร ด้วยละ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 80 ซีซี (อัตราส่วนดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 4) คนให้ดินละลายเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ดินนอนกัน ตัดใบส้มเขียวหวานให้มีขนาดประมาณ 3x3 มิลลิเมตร ใบส้มที่ใช้ต้องไม่แก่หรืออ่อนเกินไป และต้องเป็นใบที่ไม่เคยได้รับการฉีดยาป้องกันกำจัดเชื้อรามาก่อน จำนวน 20 ชิ้นต่อถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน สังเกตเส้นใยเชื้อราเจริญบนชิ้นส่วนใบส้ม จากนั้นจึงย้ายชิ้นส่วนใบส้มที่มีเชื้อราเจริญไปวางบนอาหาร PDA ผสม BNPR แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) สังเกตโคโลนีของเชื้อราเมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงย้ายลงเก็บไว้ใน PDA slant เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.1.2 การแยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ของส้มเขียวหวาน

ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากส่วนของใบ ผล ที่แสดงอาการโรค โดยวิธี tissue transplant ใช้ Water Agar แล้วย้ายไปเลี้ยงบน PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เจริญเป็นเชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ใช้โดยการย้ายเชื้อลงใน PDA slant เก็บไว้ทดลองต่อไป

3.1.2 การศึกษาลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

3.1.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ของ *Phytophthora* spp. และ *Colletotrichum* spp. ทุก isolates ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี ลักษณะเส้นใย การเกิด fruiting structures ต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมจดบันทึกรายละเอียดของเชื้อรา และถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.1.2.2 การศึกษาความแตกต่างระหว่าง Isolates ที่แยกได้ โดยใช้เทคนิค Isozyme

3.1.2.2.1 การเตรียมตัวอย่างเชื้อรา

เลี้ยงเชื้อรา *Colletotrichum* spp., *Phytophthora* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) ใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยบรรจุอาหารเหลวปริมาณ 100 มิลลิลิตร/flask นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าทุก isolates ที่แยกได้ลงมาเลี้ยงบนอาหารดังกล่าว โดยใช้ 5 flask ต่อ 1 isolate และนำ flask ทั้งหมดที่ทำการปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้วมาบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนด นำเชื้อราที่เลี้ยงได้มากรองด้วยผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำ mycelial mat เข้าเครื่อง freeze dry เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้แห้งและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นชั่งตัวอย่างเชื้อราที่ผ่านการ freeze dry เรียบร้อยแล้ว isolate ละ 1 กรัม บดให้เป็นผงละเอียดในไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) บนโถงที่ผ่านการแช่เย็น เติม extraction buffer ตัวอย่างละ 9 มิลลิลิตร และบดบนน้ำแข็งจนกว่าเซลล์เชื้อราแตก จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ให้ตกตะกอนด้วยความเร็ว 12,000 rpm. เป็นเวลา 20 นาที ดูด supernatant เก็บไว้ใน micro tube และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.2.2.2 การเตรียมเจลและการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

การประกอบเครื่องมือ Mini-PROTEIN II electrophoresis cell ดำเนินการโดยวางกระจกขนาดยาวบนพื้นที่สะอาดโดยให้ด้านที่สัมผัสผลิตภัณฑ์แห้ง ซึ่งแผ่นกระจกดังกล่าวผ่านการล้างด้วยเอทานอลแล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นวางแผ่นกระจกอีกแผ่นหนึ่งที่มีขนาดสั้นกว่าประกบเข้าไป โดยมี spacer คั่นระหว่างแผ่นกระจกทั้งสองเพื่อเป็นตัวกำหนดความหนาของเจล และนำแผ่น

กระจกดังกล่าวมายึดไว้ด้วย clamp โดยให้กระจกแผ่นยาวอยู่ข้างในและกระจกแผ่นสั้นอยู่ข้างนอก ปรับระดับฐานของกระจกให้เท่ากันด้วย casting stand และติดตั้งกระจกบน casting stand อีกครั้งเพื่อบรรจุเจลที่จะใช้ทดลองต่อไป (ภาพที่ 3.1)

การเตรียมเจล 2 ชนิดคือ separating gel และ stacking gel โดยกำหนดให้ separating gel ที่ใช้ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีลำดับขั้นตอนของการเตรียมดังนี้ นำน้ำกลั่นผสมกับสารละลาย A และสารละลาย B (ตารางภาคผนวก ก) คนเบาๆ ให้เข้ากัน จากนั้นหยดสารละลาย 10% ammonium persulfate คนให้เข้ากันอีกครั้ง จึงหยด TEMMED ตามลงไป และคนให้เข้ากันอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดส่วนผสมดังกล่าวลงในช่องว่างแผ่นกระจกทั้งสองจนกระทั่งสารละลายอครีลาไมด์มีความสูงอยู่ในระดับห่างจากปลาย comb 1 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นตามลงไปให้เต็มในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกที่เหลือเพื่อปรับระดับผิวหน้าเจลให้เรียบ ใช้พลาสติกคลุม casting stand ดังกล่าว ประมาณ 30 นาที เพื่อให้ separating gel เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชัน (polymerization) อย่างสมบูรณ์ แล้วเทน้ำที่อยู่ในช่องว่างระหว่างกระจกเหนือเจลทิ้ง และซับด้วยกระดาษชำระให้แห้ง จากนั้นเตรียม stacking gel โดยมีขั้นตอนการเตรียมเช่นเดียวกับ separating gel แต่เปลี่ยนจากสารละลาย A เป็นสารละลาย C (ตารางภาคผนวก ก) เท stacking gel ลงไปใน separating gel ให้เต็มช่องว่าง จึงใช้ comb สอดลงในช่องว่างระหว่างกระจกให้สารละลายดังกล่าวล้นออกมา ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง จึงถอด comb ออก หลังจากนั้นถอดแผ่นกระจกที่มีเจลดังกล่าวออกจาก casting stand มาประกบลงใน inner cooling core ทั้งสองด้าน โดยให้แผ่นกระจกขนาดสั้นอยู่ข้างใน กระจกยาวอยู่ข้างนอก แล้วย้าย inner cooling core ลงไปใน lower buffer chamber เตรียม running buffer ลงไปใน inner cooling core ให้ท่วมแผ่นกระจกที่อยู่ข้างในประมาณ 115 มิลลิลิตร ส่วน buffer ที่เหลือเทลงไปใน lower buffer chamber นำ supernatant ที่ได้มาผสมกับ sample buffer (loading buffer) ในอัตราส่วน 1 : 0.5 และนำมาอุ่นในน้ำร้อนประมาณ 1 นาที ใช้ micro pipette ดูดส่วนผสมดังกล่าวหยดลงในช่อง (well) ของ stacking gel ช่องละ 15 ไมโครลิตร จนครบทุกช่อง โดยเหลือ 1 ช่องที่ขอบเจลไว้เพื่อหยด molecular weight standard เป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นเปิด power supply เดินเครื่องเป็นเวลา 50 นาที (150 Const. V., 60 mA.) แล้วจึงแกะแผ่นเจลออกด้วยความระมัดระวัง และนำมาย้อมสีด้วย coomassie blue

การย้อมสีแผ่นเจลด้วย coomassie blue ดำเนินการโดยเท fixing solution ลงในกล่องพลาสติกใส และวางแผ่นเจลลงไป เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเท fixing solution ออกเก็บไว้ในขวดเดิม และย้อมสีด้วย coomassie blue เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเท coomassie blue ออก จากนั้นแช่ด้วย destaining solution เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะปรากฏแถบโปรตีนชัดเจน จึงเก็บแผ่นเจลไว้ใน 7% acetic acid คำนวณหาพื้นที่ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงงานไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาดเห็นาเบไซประยเอชนด้านารค้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีน โดยทำการวัดระยะทางของแถบโปรตีนที่ปรากฏเปรียบเทียบกับแถบโปรตีนมาตรฐาน ซึ่งคำนวณได้จากค่า Rf (Relative mobilities) โดย

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางจากขอบ separating gel ถึงส่วนกลางของแต่ละแถบโปรตีน}}{\text{ระยะทาง tracking dye}}$$

การตรวจดูตำแหน่งของการปรากฏแถบโปรตีน และไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อแต่ละ isolate ซึ่งการบันทึกผลจะใช้ระบบตัวเลข คือการปรากฏแถบโปรตีนให้สัญลักษณ์เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนให้สัญลักษณ์เป็น 0 โดยทำการบันทึกทุกตำแหน่งของแถบโปรตีนที่ปรากฏ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแต่ละ isolate โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS (cluster analysis) และเสนอเป็น dendrogram แสดงความสัมพันธ์ดังกล่าว

จากการทดลองนำทุก isolates ที่แยกได้มาศึกษาเปรียบเทียบ และนำไปทดสอบหา isolates ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดเพื่อนำไปศึกษาต่อไป

3.1.3 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (Pathogenicity test)

3.1.3.1 ความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phytophthora parasitica* กับส่วนต่างๆ ของส้ม

การทดสอบกับใบส้มเขียวหวาน ทำการทดลองโดยนำเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *P. parasitica* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเจาะเชื้อราพร้อมชิ้นวุ้นอาหาร บริเวณขอบโคโลนีไปปลูกเชื้อลงบนใบส้มที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุด แยกต่างหากจากกันในแต่ละเชื้อ ทำการปลูกเชื้อ 10 ใบ (ซ้ำ) ใบหนึ่งทำการปลูกเชื้อ 2 แผล ทำการปลูกเชื้อทั้งหมด 20 แผล และไม่ปลูกเชื้อ(control) ทำการทดลอง 10 ใบ ใบละ 2 แผล เช่นเดียวกัน จากนั้นนำใบส้มที่ทดลองใส่ถุงพลาสติก ที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่น ตรวจสอบผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อ โดยสังเกตอาการผิดปกติบนแผลที่ปลูกเชื้อไว้เปรียบเทียบกับ control

การทดสอบกับผลส้มเขียวหวาน โดยใช้ผลส้มเขียวหวานที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป ทำการทดลองโดยนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *P. parasitica* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ลนไฟฆ่าเชื้อเจาะชิ้นเชื้อราพร้อมชิ้นวุ้นอาหารบริเวณขอบโคโลนี นำไปปลูกเชื้อลงบนผลส้มที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดฆ่าเชื้อ แยกต่างหากจากกันในแต่ละเชื้อ โดยทำการปลูกเชื้อจำนวน 10 ผล (ซ้ำ) และไม่ปลูกเชื้อ (control) จำนวน 10 ผล โดยใช้ชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเชื้อ จากนั้นพ่นด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และใส่ในถุงพลาสติก ตรวจสอบผลการทดลองหลังจากการปลูกเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค จะคัดเลือกเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *P. parasitica* ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคสูงสุดไปศึกษาวิจัยต่อไป

3.1.3.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกัน (Pathogenicity of Disease Complex)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกันของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *P. parasitica* ซึ่งเป็น isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานมากที่สุด โดยการพิสูจน์ความสามารถทำให้เกิดโรคร่วมกันกับกิ่งตอนส้มเขียวหวานที่ปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว อายุ 3 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น ทำการพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามวิธี Koch's postulates โดยนำเชื้อ *C. gloeosporioides* สายพันธุ์ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสสูงสุด และเชื้อ *P. parasitica* isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าสูงสุด เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน นำมาทำ spore suspension ที่ระดับ 2.5×10^6 spore/ml สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* และ 2.8×10^6 sporangia/ml สำหรับเชื้อ *P. parasitica* ตามลำดับ (Yang et al., 1992) ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยการใส่สปอร์แขวนลอย ฉีดพ่นลงบนใบที่ทำให้เป็นแผลด้วยเข็มเย็บเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้ทั่ว เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ซึ่งฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออย่างเดียวนั้นจึงทำการปลูกเชื้อ *P. parasitica* ลงบนต้นเดียวกันโดยการรด sporangial suspension ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อต้น ลงบนดินบริเวณโคนต้นที่ทำให้เป็นแผลด้วยปลายเข็มหมุดรอบโคนต้น ต้นละ 20 แผล เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ โดยใช้น้ำกลั่นอย่างเดียวนั้น และเปรียบเทียบกับกิ่งต้นส้มที่ทำการปลูกเชื้อรา *P. parasitica* หรือ *C. gloeosporioides* เพียงอย่างเดียวด้วย หลังจากปลูกเชื้อแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุม 3-4 สัปดาห์ ดูแลให้ความชื้น เก็บไว้ในเรือนทดลอง ตรวจสอบการเกิดโรค และวัดระดับการเกิดโรค (Disease Index) โดยโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler et al., 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับโรคแอนแทรกโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993) เมื่อพบว่าใบหรือต้นที่แสดงอาการเป็นโรค จึงนำมาทำ reisolate เปรียบเทียบลักษณะเชื้อต่อไป

3.2 การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

นำเชื้อราสาเหตุโรสดังกล่าวข้างต้นและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่เชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01, *Trichoderma hamatum* PC02, *Chaetomium globosum* CG และ *Chaetomium cupreum* CC ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มาทำการศึกษาคือ เพื่อศึกษาให้ทราบถึงระดับของอุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราดังกล่าว ในห้องปฏิบัติการ

โดยจัดสิ่งทดลองแบบ 4x4x5 Factorial experiment in Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

Factors A อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อมี 4 ระดับ คือ

A1 = อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

A2 = อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

A3 = อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

A4 = อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

Factors B อาหารเลี้ยงเชื้อมี 4 ชนิด คือ

B1 = อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

B2 = อาหารเลี้ยงเชื้อ Sweet potato dextrose agar (SDA, จากมันเทศ)

B3 = อาหารเลี้ยงเชื้อ Cassava dextrose agar (CSA, จากมันสำปะหลัง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ B4 = อาหารเลี้ยงเชื้อ Citrus dextrose agar (CDA, จากน้ำคั้นจากผลส้ม) ด้านการค้าไม่ว่ากรรมใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Factors C ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อมี 5 ระดับ คือ

C1 = pH 3

C2 = pH 4

C3 = pH 5

C4 = pH 6

C5 = pH 7

ผลจากการวิจัยดังกล่าวจะนำอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ไปใช้ในการทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture antagonistic tests) ต่อไป

3.3 การทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi – culture antagonistic test)

การทดสอบศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการทดสอบโดยวิธี bi-culture test บนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 นำเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ เชื้อรา *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC มาเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรค และเชื้อ *P. parasitica* เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรค โดยเลี้ยงเชื้อราทั้งหมดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราแต่ละชนิด ย้ายชิ้นวัน 2 ชิ้นของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน และเชื้อราสาเหตุโรค ลงบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 โดยวางในด้านตรงข้ามเว้นระยะห่างเท่ากัน โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำ 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วน control นั้นเลี้ยงเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรค บนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ทำอย่างละ 4 ซ้ำ เลี้ยงเชื้อราไว้จนเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และนับจำนวนสปอร์ โดยใช้เครื่องนับสปอร์ (haemocytometer) ของเชื้อโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมและในจาน control

ทำการศึกษา antagonism ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน และเชื้อราสาเหตุโรคพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธี slide bi-culture test โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อบางๆ ทิ้งไว้ให้เย็น ทำการตัดชิ้นวันเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1x1 เซนติเมตร จากนั้นใช้เข็ม เขี่ยย้ายชิ้นวันที่ตัดไปวางบนแผ่นสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยจุ่มแอลกอฮอล์แล้วผ่านความร้อน การคำนวณว่ากรณีใดข้างต้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตะเกียง 2-3 ครั้ง และย้ายจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิด คือ *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC เชื้อรา แต่ละชนิดวางบนบริเวณขอบขึ้นวุ้น แยกต่างหากจากกัน แล้วย้ายเชื้อสาเหตุโรคได้แก่เชื้อ *P. parasitica* หรือเชื้อ *C. gloeosporioides* วางบนขึ้นวุ้นอีกด้านหนึ่งในตำแหน่งตรงข้ามกัน ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำ สไลด์บ่มไว้ใน moist chamber ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน นำสไลด์มาส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตการทำปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างเชื้อสาเหตุโรคกับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิด

การประเมินว่าจุลินทรีย์ต่อต้าน isolates ใดที่ศักยภาพสูงต่อการควบคุมเชื้อโรคพืช โดยการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent inhibition = PI) ตามวิธีการของ เกษม (2532ง) ดังนี้ $PI = (R1 - R2 / R1) \times 100$ โดย

R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณสปอร์ของเชื้อโรคใน control

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณสปอร์ของเชื้อโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

ทำการเปรียบเทียบระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านดังนี้

++++ (4) = Very high antagonistic activity (> 75 PIRG)

+++ (3) = High antagonistic activity (61-75 PIRG)

++ (2) = Moderate antagonistic activity (51-60 PIRG)

+ (1) = Low antagonistic activity (< 50 PIRG)

3.4 การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านเพื่อควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์คือ *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc), *T. Harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) และ Chaetoglobosin C (สารบริสุทธิ์สกัดได้จาก *Ch. globosum*) โดยสารสกัดจุลินทรีย์ดังกล่าวได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.สมเดช กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งมีขั้นตอนการทดลองดังนี้คือ เตรียมสารสกัดข้างต้นให้ได้ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, และ 500 ppm. ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร เจาะขอบโคโลนีของเชื้อรา

เอกลักษณะของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำมาใช้ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วย้ายขึ้นวันมาวางตรงกลางจานอาหารผสมสารสกัด บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบกำหนดวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ และนับจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์และค่า ED_{50}

3.5 การประเมินประสิทธิภาพการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในสภาพเรือนทดลองและแปลงทดลอง

3.5.1 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคร่วม(Disease complex)ของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลอง

ทำการทดลองแบบ 5x5 Factorial experiment in Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 2 ต้นดังนี้

Factors A ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินปลูกส้ม มี 5 ระดับ คือ

A1 = pH3

A2 = pH4

A3 = pH5

A4 = pH6

A5 = pH7

Factor B การใช้จุลินทรีย์ซึ่งพัฒนาเป็นชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ด มี 5 วิธี คือ

B1 = การใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด อัตรา 10 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์

B2 = การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์

B3 = การใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดอัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 2.5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์

B4 = การใช้สารเคมี carbendazim ฉีดพ่นลงบนใบส้ม และ metalaxyl ราดลงดิน และ

B5 = ไม่ใช้วิธีการใด (control)

ทำการทดลองกับกิ่งตอนของส้มที่มีอายุ 3 เดือน ที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12

นิ้ว ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 โดยทำสปอร์แขวนลอยที่ระดับ 2.5×10^6 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น เมื่อนักผู้จัดทำเห็นว่าประโยชน์ของการนำเอกสารนี้ไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

spore/ml นำไปฉีดพ่นลงบนใบส้ม โดยก่อนทำการปลูกเชื้อทำแผลบนใบ ส่วนการปลูกเชื้อ *P. parasitica* P101 โดยทำสปอร์แขวนลอยที่ระดับ 2.8×10^6 sporangia/ml เทราดลงดินตรงบริเวณโคนต้นโดยทำแผลที่ส่วนโคนต้นด้วยปลายเข็มหมุด จากนั้นใส่ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ตามที่กำหนดไว้ ดูแลรดน้ำและกำจัดวัชพืช และประเมินระดับการเกิดโรคทุกเดือน โดยการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค ดังนี้คือโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

สำหรับโรคแอนแทรกโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993) เก็บตัวอย่างดิน มาตรฐานปริมาณเชื้อราสาเหตุโรค

วิธีการตรวจนับปริมาณเชื้อราสาเหตุโรค

การตรวจนับเชื้อ *Phytophthora* sp. โดยวิธีตรวจนับปริมาณ colonization โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากในแต่ละวิธี นำดินใส่ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร ถ้วยละ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 80 ซีซี (อัตราส่วนดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 4) คนให้ดินละลายเข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้ดินนอนกัน ตัดใบส้มเขียวหวานให้มีขนาดประมาณ 3x3 มิลลิเมตร ใบส้มที่ใช้ต้องไม่แก่หรืออ่อนเกินไป และต้องเป็นใบที่ไม่เคยได้รับการฉีดยาป้องกันกำจัดเชื้อรามาก่อน จำนวน 20 ชิ้นต่อถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณส่วนขยายพันธุ์ (propagules) ได้แก่ sporangia, oospore, chlamyospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การตรวจนับเชื้อ *Colletotrichum* sp. ตามวิธีการของ สุมิตรา (2540) โดยเก็บตัวอย่างดินในแต่ละวิธีการทดลอง มาบดให้ละเอียดประมาณ 0.025-0.005 กรัม ใส่ลงในจานอาหารที่ฆ่าเชื้อ

แล้ว เทอาหาร Glucose Peptone Agar (Glucose 10 g, NH_2NO_3 0.50 g, Peptone 2 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 05 g, Agar 20 g, Distilled water 1,000 ml.) ที่กำลังอุ่นอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วหมวนจานอาหารไปรอบๆ เพื่อให้อนุภาคดินกระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปล่อยให้จานอาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืด เป็นเวลา 3 วัน ทำการนับปริมาณ colony forming unit (cfu.) เปรียบเทียบปริมาณเชื้อต่อดิน 1 กรัม หลังการทดลอง

3.5.2 การประเมินประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในการควบคุมโรคของส้มเขียวหวานในสภาพสวน โดยทำการทดลองกับแปลงลูกส้มเขียวหวาน ไร่กาญจนาศักดิ์ อำเภอบพพระ จังหวัดตาก ส้มเขียวหวาน อายุ 7 ปี ซึ่งมีการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส โดยทำการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ (1 ซ้ำมี 5 ต้น) โดยมีจำนวน 4 วิธีการ (Treatment) วิธีการละ 25 ต้น รวมต้นที่ทดลอง 100 ต้น

วิธีการที่ 1 การใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 10 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้นส้ม

วิธีการที่ 2 การใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น

วิธีการที่ 3 การใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น

วิธีการที่ 4 ไม่ใช้จุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น (control)

การบันทึกข้อมูล

-ประเมินระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนส ในแต่ละเดือน โดยการให้ระดับคะแนนการเกิดโรคดังต่อไปนี้

1. การให้ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* แบ่งการให้ระดับ

คะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นล้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่เอกสารเป็นเอกสารที่สวงนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แห้งตายจากยอด สัมแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นล้มเริ่มโทรมลง ใบชืดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นล้มโทรมลง ใบชืด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นล้มโทรมลง ใบชืดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นล้มโทรมลง ใบชืดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

2. การให้ระดับคะแนนการเกิดโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

3. การหาระดับการเกิดโรคร่วม คำนวณได้จาก

$$\frac{\text{ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ย} + \text{ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส}}{2}$$

2

4. การหาระดับการเกิดโรคร่วมลดลง คำนวณได้จาก

$$\left[\frac{\text{ระดับการเกิดโรคร่วมในการทดลองเปรียบเทียบ} - \text{ระดับการเกิดโรคร่วมใน Treatment}}{\text{ระดับการเกิดโรคร่วมในการทดลองเปรียบเทียบ}} \right] \times 100$$

-ตรวจนับปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดินสำหรับการตรวจเชื้อ *P. parasitica* และตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครอง (colonization) ของเชื้อ *P. parasitica* ตามวิธีการของสนชัย (2540) และตรวจสอบปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* ตามวิธีการของสุมิตรา (2540)

-นับปริมาณผลผลิตต่อต้น น้ำหนักผล เส้นผ่าศูนย์กลางของผล

-ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน อุณหภูมิดิน อุณหภูมิอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ทุกเดือน

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกซินสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

4.1.1 การศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรกซินสและโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

จากการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกซินสของส้มเขียวหวาน ที่ไร่กาญจนศักดิ์ อำเภอบพพระ จังหวัดตาก ที่มีพื้นที่ปลูก จำนวน 40 ไร่ โดยสุ่มประเมินการเกิดโรคจำนวน 80 ต้น มีอายุ 7 ปี โดยมีระยะปลูก 5x5 เมตร ทำการสุ่มตัวอย่างโดยแบ่งแปลงทดลองโดยทำการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 4 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ (1 ซ้ำมี 5 ต้น) และทำการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกซินส ช่วงเดือน เมษายน 2540 พบว่าระดับการเกิดโรคแอนแทรกซินสเฉลี่ย เท่ากับ 3 กล่าวคือพบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ส่วนระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 ลักษณะต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กงอและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.1) จากการตรวจค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน พบว่าแปลงปลูกส้มเขียวหวานมีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 5.49 ค่าอุณหภูมิดินเฉลี่ยเท่ากับ 25.66 องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิอากาศเฉลี่ยเท่ากับ 25.53 องศาเซลเซียส ค่าความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับ 53.39 เมื่อขุดต้นส้มที่ยืนแห้งตาย พบว่ารากจะเน่า มีสีน้ำตาล เปื่อยยุ่ยได้ง่าย (ภาพที่ 4.1) ต้นส้มจะอ่อนแอไม่สมบูรณ์ เนื่องจากระบบรากไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดโรคอื่นแทรกซ้อนได้ง่ายซึ่งในแปลงปลูกส้มเขียวหวานดังกล่าวจะพบลักษณะอาการของโรคแอนแทรกซินสควบคู่ด้วย โดยอาการจะแสดงที่ใบและผล โดยที่ใบจะพบเป็นจุดสีน้ำตาล บริเวณรอบขอบแผลมีสีเหลืองกระจายรอบๆ แผล ในบริเวณแผลจะพบกลุ่ม สปอร์สีดำเจริญเป็นวงแหวน สำหรับอาการที่ผลพบว่าจะรุนแรงมากโดยเชื้อสาเหตุโรคจะเข้าทำลายที่ขั้วผล โดยเริ่มแรกจะเกิดเป็นแผลจุดสีน้ำตาล และขยายวงกว้างอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดอาการเน่าที่ขั้วผล ทำให้ผลหลุดร่วงเป็นจำนวนมาก ทำให้ได้ผลผลิตลดลง (ภาพที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ก่อนทำการทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ช่วงเดือน เมษายน 2540

วิธีการ	รากเน่าโคนเน่า ^{1/}	แอนแทรคโนส ^{2/}	ระดับการเกิดโรค รวม ^{3/}
<i>Trichoderma</i>	3.40 a ^{4/}	3 a	3.20
<i>Chaetomium</i>	3.65 a	3 a	3.32
<i>Trichoderma / Chaetomium</i>	3.40 a	3 a	3.20
Control	3.30 a	3 a	3.15
เฉลี่ย	3.43	3	3.21

^{1/} ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler *et al.*, 1989)

^{2/} ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll *et al.*, 1993)

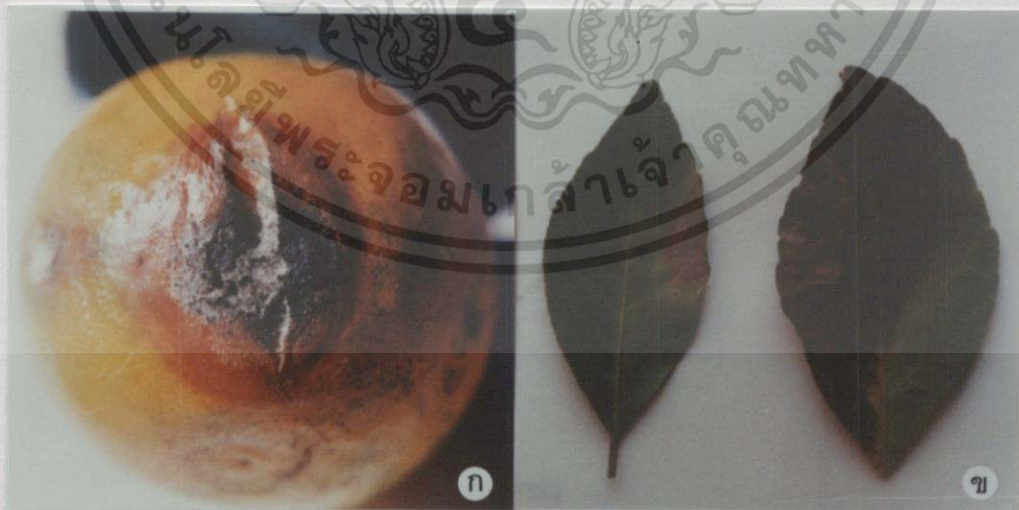
^{3/} ระดับการเกิดโรครวม = ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ย + ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ย

2

^{4/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ DMRT ที่ P = 0.01



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะอาการโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dastur ก. ต้นส้มเขียวหวานที่กำลังยืนต้นตาย(ขณะยังติดผลอยู่)
ข. ลักษณะอาการ รากเน่าของส้มเขียวหวาน



ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะอาการของผลส้มเขียวหวานที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1.1 การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของ ส้มเขียวหวาน

จากการแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 6 isolates ซึ่งแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ได้แก่ ส่วนรากที่แสดงอาการรากเน่า สามารถแยกเชื้อราได้ 2 isolates คือ P 202 และ P 203 และการแยกเชื้อจากดินบริเวณโคนต้นส้มที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน โดยวิธี baiting โดยใช้ใบส้มเขียวหวานเป็นเหยื่อล่อ สามารถแยกเชื้อราได้ 4 isolates คือ P 101, P 102, P 103 และ P 201

4.1.1.2 การแยกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ ส้มเขียวหวาน

จากการแยกเชื้อ *Colletotrichum* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 11 isolates ซึ่งแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ได้แก่ ส่วนของผล ส้มเขียวหวานที่เป็นโรค สามารถแยกเชื้อได้ 5 isolates คือ CFFS 061, CFFS 012, CFFS 063 CFFS 064 และ CFFS 042 และส่วนของใบส้มเขียวหวานที่เป็นโรค สามารถแยกเชื้อได้ 6 isolates คือ CFLS 023, CFLS 012, CFLS 013, CFLS 041, CFLS 052 และ CFLS 031

4.1.2 การศึกษาลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและโรครากเน่าโคนเน่า ของส้มเขียวหวาน

4.1.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

จากการนำเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 11 isolates มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ ลักษณะโคโลนี เส้นใย ของแต่ละ isolates ภายใตกล้องจุลทรรศน์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

นี้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P101

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 7.33x7.5 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 8.5x11.6 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.3 (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P101

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการแข่งขันในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P102

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 8×8.5 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 8.2×10.4 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.2 (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P102

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia และ oospore 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P103

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 11.5x12.5 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 11x17 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.5 (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P103

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia และ oospore 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P201

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 10.3×10.6 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 11.4×15.8 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.3 (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.6 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P201

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia และ oospore 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P202

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 10.5x10 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 8x11 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.37 (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P202

- ก . ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia และ oospore 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora parasitica Dastur Isolate P203

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวละเอียด เจริญช้า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน เส้นใยฟูสีใส ไม่มีผนังกัน พบการสร้าง oospore มีลักษณะกลม มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 10.6x11.3 ไมครอน sporangium มีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดประมาณ 9.3x14 ไมครอน มี papilla เด่นชัด มีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangium เท่ากับ 1 : 1.5 (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dastur Isolate P203

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ sporangia 100 เท่า
- ค. ลักษณะ sporangia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ oospore 100 เท่า
- จ. ลักษณะ oospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 061

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน สร้างเส้นใยฟู บาง สีใดถึงสีน้ำตาลอ่อน ไม่พบการสร้าง conidial masses conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5x11.25–15 ไมครอน รูปร่าง conidia มีการแปรปรวนค่อนข้างมาก มีการสร้าง chlamyospore แบบ terminal และ intercalary สีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง sclerotia จำนวนมาก ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 4.9)



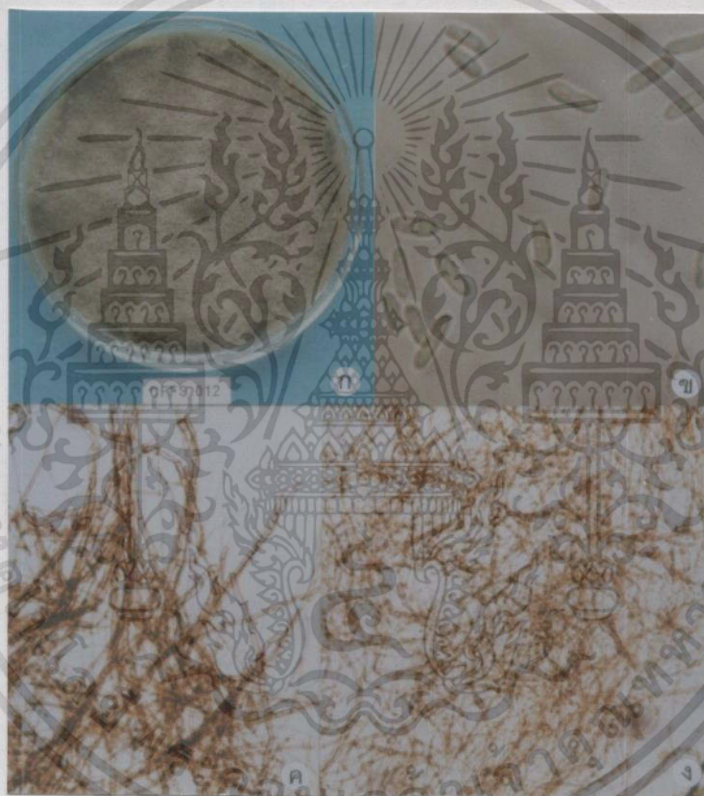
ภาพที่ 4.9 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 061

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- ค. ลักษณะเส้นใย 100 เท่า
- ง. ลักษณะ chlamyospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 012

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน มีสีเทาอมดำ สร้างเส้นใยฟู หนา สีนํ้าตาลอ่อนถึงนํ้าตาลเข้ม ไม่พบการสร้าง conidial masses conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ไส้ ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5x7.5–12.5 ไมครอน พบการสร้าง chlamydospore แบบ terminal และ intercalary สีนํ้าตาลเข้ม ไม่พบการสร้าง sclerotia และ setae (ภาพที่ 4.10)



ภาพที่ 4.10 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 012

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- ค. ลักษณะ เส้นใย 100 เท่า
- ง. ลักษณะ chlamydospore 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 063

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีขาวอมเทาถึงสีเทาอมดำ สร้างเส้นใยฟู บาง มีสีน้ำตาลอ่อน พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูไม่มากนัก conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน โคนไม่มีสี เซลเดี่ยว มีขนาดประมาณ 4.37–6.25 x 12.5–15 ไมครอน พบการสร้าง sclerotia จำนวนน้อย ไม่พบการสร้าง chlamyospore และ setae (ภาพที่ 4.11)



ภาพที่ 4.11 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 063

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะเส้นใย 100 เท่า
- ค. ลักษณะ conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 064

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน มีสีขาวอมเทา สร้างเส้นใยฟู บาง มีสีใตถึงสีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูกระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดี่ยว มีขนาดประมาณ 2.5–5 x 11.25–15 ไมครอน พบการสร้าง setae สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก พบ sclerotia พบการสร้าง chlamydospore แบบ terminal และ intercalary สีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4.12)



ภาพที่ 4.12 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc.

Isolate CFFS 064

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะเส้นใย chlamydospore 100 เท่า
- ค. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- ง. ลักษณะ setae 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 042

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีชาวมเทา การเจริญของเชื้อมีความแปรปรวนค่อนข้างมาก สร้างเส้นใยฟู บางเรียบติดผิวหน้าอาหาร มีสีใส พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูจำนวนมากกระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดี่ยว มีขนาดประมาณ 3.75–5.00 x 12.50–20.00 ไมครอน พบการสร้าง setae สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก เมื่ออายุมากขึ้น ไม่พบการสร้าง sclerotia และ chlamyospore (ภาพที่ 4.13)



ภาพที่ 4.13 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFFS 042

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- ค. ลักษณะ setae 100 เท่า
- ง. ลักษณะ เส้นใย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 023

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีขาวอมเทา สร้างเส้นใยฟู บางเรียบติดผิวหน้าอาหาร มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูจำนวนมากกระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5.00 x 10.00–15.00 ไมครอน พบการสร้าง setae สีน้ำตาลเข้มจำนวนน้อยมาก พบการสร้าง chlamydospore แบบ terminal และ intercalary สีน้ำตาลเข้ม ไม่พบการสร้าง sclerotia (ภาพที่ 4.14)



ภาพที่ 4.14 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc.

Isolate CFLS 023

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะ setae 400 เท่า
- ค. ลักษณะ เส้นใย 100 เท่า
- ง. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- จ. ลักษณะ chlamydospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 012

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีชาวมเทา สร้างเส้นใยฟู บาง มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม การเจริญของเชื้อมีความแปรปรวนค่อนข้างมาก พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูจำนวนมากกระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 5.00–7.50x10.00–15.00 ไมครอน พบการสร้าง sclerotia กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร พบ setae สีน้ำตาลเข้มจำนวนมากเมื่อมีอายุมากขึ้น (ภาพที่ 4.15)



ภาพที่ 4.15 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc.

Isolate CFLS 012

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะการเกิด spore
- ค. ลักษณะ setae 100 เท่า
- ง. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- จ. ลักษณะเส้นใย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 013

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีเทาอมดำ สร้างเส้นใยฟู บาง สีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูจำนวนมากกระจายทั่วบนผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5.00x10.00–15.00 ไมครอน พบการสร้าง sclerotia จำนวนน้อย ไม่พบการสร้าง setae และ chlamyospore (ภาพที่ 4.16)



ภาพที่ 4.16 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 013

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะเส้นใย 100 เท่า
- ค. ลักษณะ conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 041

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน มีสีเทาอมดำ สร้างเส้นใยฟู เรียบติดผิวหน้าอาหาร พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูปริมาณน้อย conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ไส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5.00x12.50–16..25 ไมครอน พบการสร้าง sclerotia จำนวนมากกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร พบการสร้าง chlamydo-spore แบบ terminal และ intercalary สีนํ้าตาลเข้ม ไม่พบการสร้าง setae (ภาพที่ 4.17)



ภาพที่ 4.17 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 041

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะเส้นใย chlamydo-spore 400 เท่า
- ค. ลักษณะ conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 052

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 12 วัน มีสีขาวอมเทา สร้างเส้นใยฟูหนา สีใส ขอบโคโลนีเรียบ พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูปริมาณมากกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมนใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 2.50–5.00x12.50–15.00 ไมครอน พบการสร้าง chlamydospore แบบ terminal และ intercalary สีน้ำตาลเข้ม ไม่พบการสร้าง sclerotia และ setae (ภาพที่ 4.18)



ภาพที่ 4.18 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 052

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 12 วัน
- ข. ลักษณะ conidia 400 เท่า
- ค. ลักษณะเส้นใย chlamydospore 100 เท่า
- ง. ลักษณะ chlamydospore 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 031

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ที่อายุ 10 วัน มีสีเทาเข้มถึงสีน้ำตาลเข้มอมดำ สร้างเส้นใยฟู สีน้ำตาลเข้ม พบการสร้าง conidial masses มีสีส้มอมชมพูปริมาณมากกระจายทั่วผิวน้ำอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 3.75–5.00x10.00–12.50 ไมครอน ไม่พบการสร้าง chlamydospore sclerotia และ setae (ภาพที่ 4.19)



ภาพที่ 4.19 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc. Isolate CFLS 031

- ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. ลักษณะเส้นใย 100 เท่า
- ค. ลักษณะ conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2.2 การศึกษาความแตกต่างระหว่าง Isolate ของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

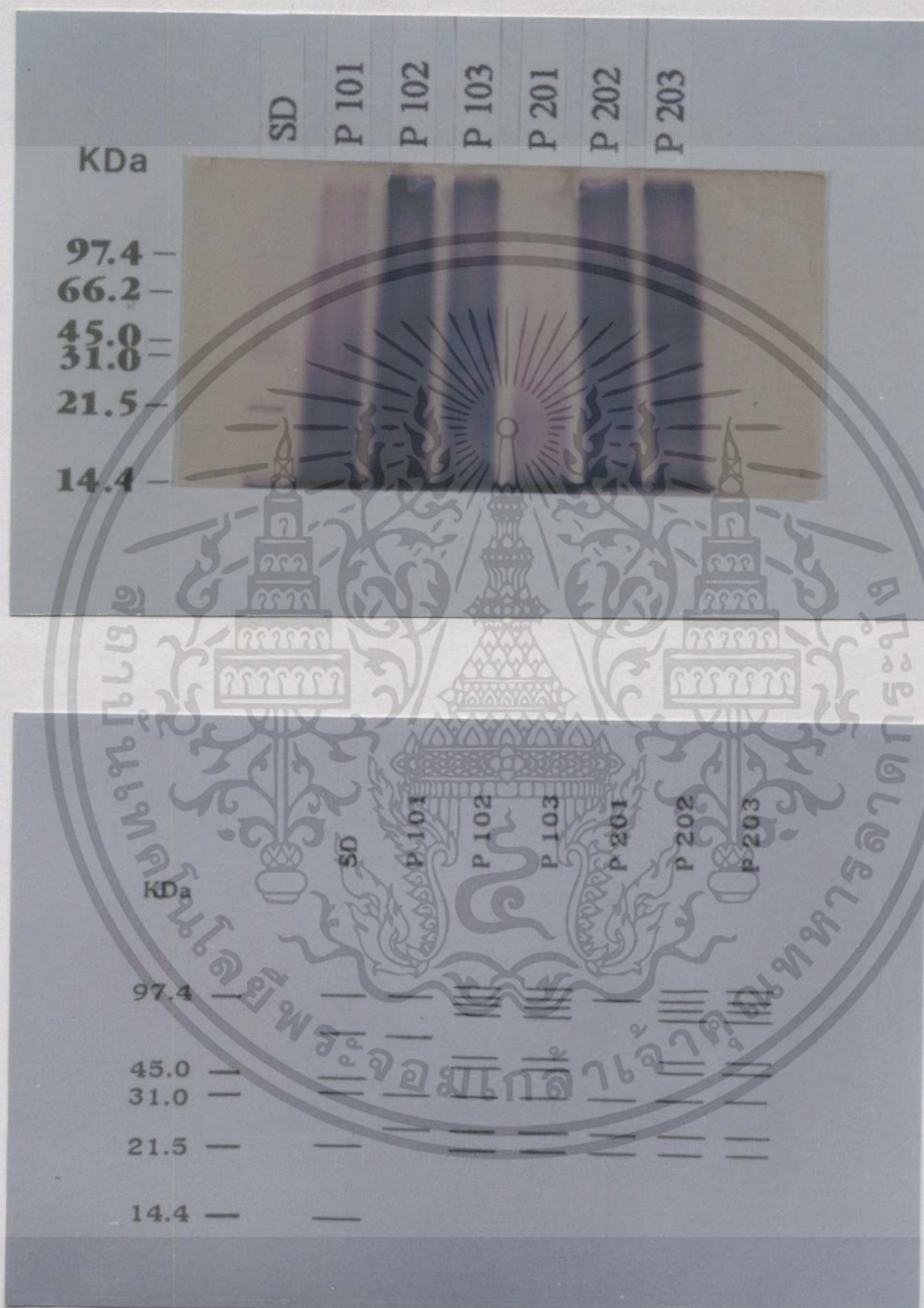
จากการใช้เทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 11 isolates โดยบันทึกการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน พบว่าเชื้อ *P. parasitica* ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 23–99 KDa (ภาพที่ 4.20–4.21) โดยเกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 7 แถบ และมีน้ำหนักโมเลกุลไม่แตกต่างกัน 3 แถบ ในตำแหน่งที่ 2, 8 และ 9 ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 89.5, 46 และ 29 KDa ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) เมื่อวิเคราะห์แถบโปรตีนที่ปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน ในแต่ละตำแหน่ง และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS ซึ่งผลแสดงออกมาในรูป dendrogram (ภาพที่ 4.21) ทำให้จำแนกความแตกต่างของเชื้อ *P. parasitica* ได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ P202, P203, P102 และ P103

กลุ่มที่ 2 มี 1 isolate ได้แก่ P101

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ P201

ซึ่งการแบ่งกลุ่มเชื้อราดังกล่าวพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง คือในกลุ่มที่ 1 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 และ 10 น้ำหนักโมเลกุล 99, 89.5, 86, 84, 64, 56, 46, 29 และ 23 KDa ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 2, 5, 8 และ 9 น้ำหนักโมเลกุล 89.5, 73, 46 และ 29 KDa ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ 3 พบแถบโปรตีนในตำแหน่งที่ 2, 8, 9 และ 10 น้ำหนักโมเลกุล 89.5, 46, 29 และ 23 KDa ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

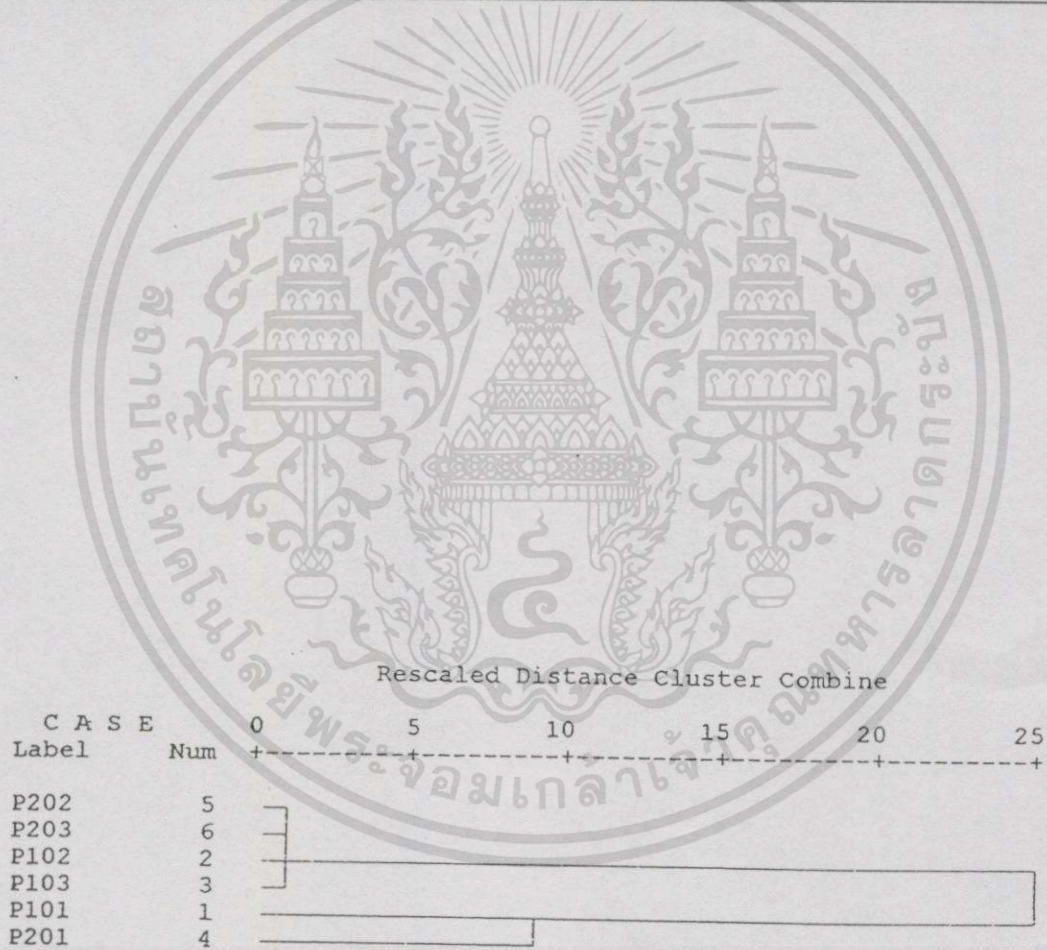


ภาพที่ 4.20 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolates ต่างๆ
โดยเทคนิค SPSS - PAGE
ตัวเลขด้านซ้ายแสดงน้ำหนักโมเลกุล (KDa)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0

<i>Phytophthora</i>	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน									
	แถบ 1	แถบ 2	แถบ 3	แถบ 4	แถบ 5	แถบ 6	แถบ 7	แถบ 8	แถบ 9	แถบ 10
P101	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
P102	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
P103	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
P201	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
P202	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
P203	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1



ภาพที่ 4.21 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* isolates ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการใช้เทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates พบว่าทั้งหมดมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 11 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 9–102 KDa (ภาพที่ 4.22) โดยเกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 10 แถบ (ตารางที่ 4.3) เมื่อวิเคราะห์แถบโปรตีนที่ปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนในแต่ละตำแหน่ง และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS ซึ่งผลแสดงออกมาในรูป dendrogram (ภาพที่ 4.23) ทำให้จำแนกความแตกต่างของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ 4 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ CFLS041, CFLS063, CFFS023, CFFS061, CFLS064 และ CFLS052

กลุ่มที่ 2 มี 3 isolates ได้แก่ CFLS013, CFFS042 และ CFFS012

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS012

กลุ่มที่ 4 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS031

ซึ่งการแบ่งเชื้อราดังกล่าวพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง คือในกลุ่มที่ 1 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 3 น้ำหนักโมเลกุล 83 KDa กลุ่มที่ 2 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 2 และ 4 น้ำหนักโมเลกุล 93.5 และ 78 KDa กลุ่มที่ 3 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 1 น้ำหนักโมเลกุล 102 KDa และกลุ่มที่ 4 พบแถบโปรตีนในตำแหน่ง 5, 7, 8, 9, 10 และ 11 น้ำหนักโมเลกุล 72.5, 56.5, 54, 48.5, 16.5 และ 9 KDa ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราดังกล่าวออกเป็นกลุ่มย่อยได้ดังต่อไปนี้คือ

กลุ่มที่ 1 สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 4 isolates ได้แก่ CFFS023, CFLS041 และ CFLS063

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS052

กลุ่มย่อยที่ 1.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS064

กลุ่มย่อยที่ 1.4 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS061

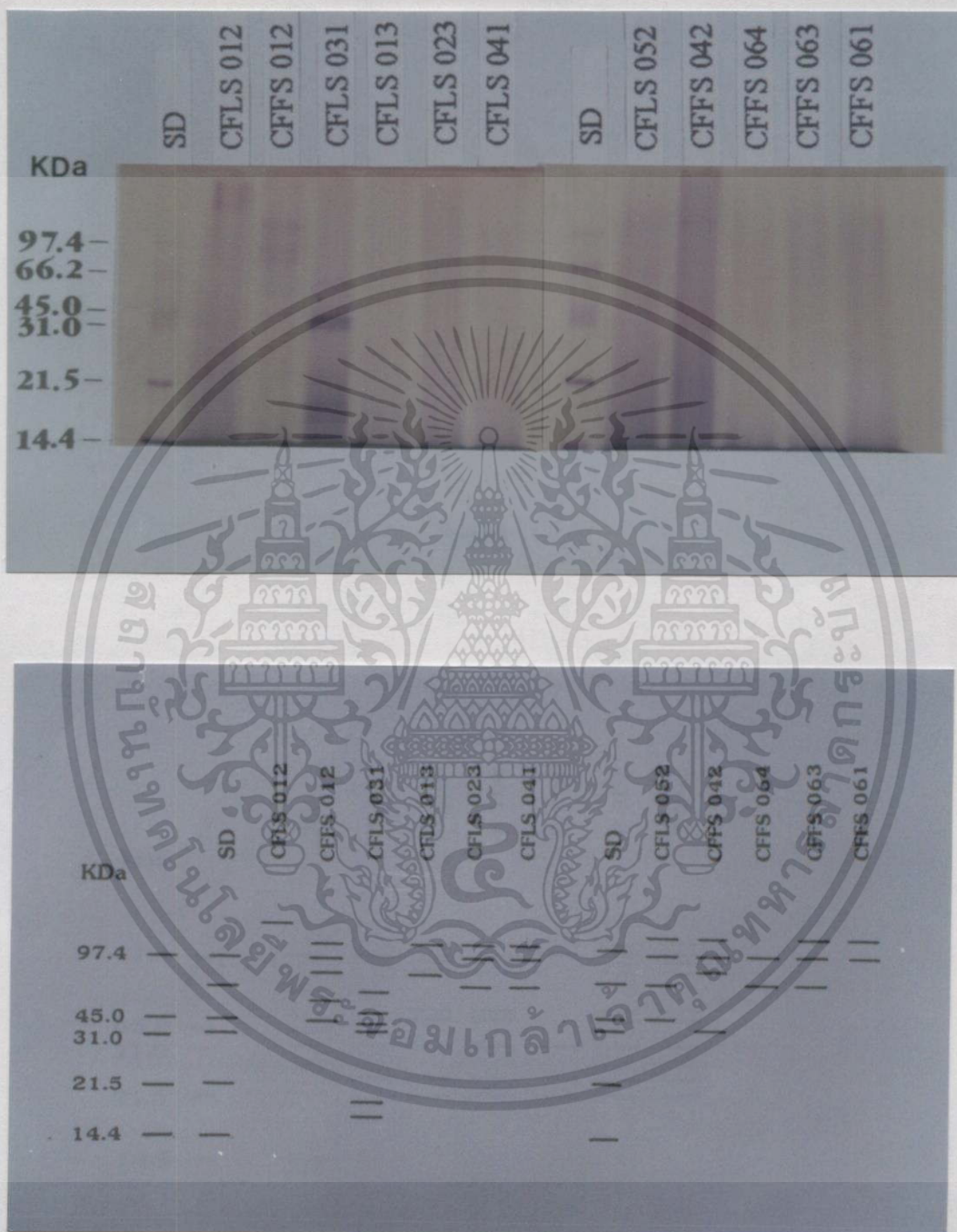
กลุ่มที่ 2 สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS012

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS013

กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS042

ซึ่งการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อราออกเป็นกลุ่มย่อยต่างๆ อาศัยความแตกต่างของแถบโปรตีนหลักในกลุ่มใหญ่ โดยเชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันจะเกิดแถบโปรตีนในตำแหน่งเดียวกัน



ภาพที่ 4.22 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolates ต่างๆ

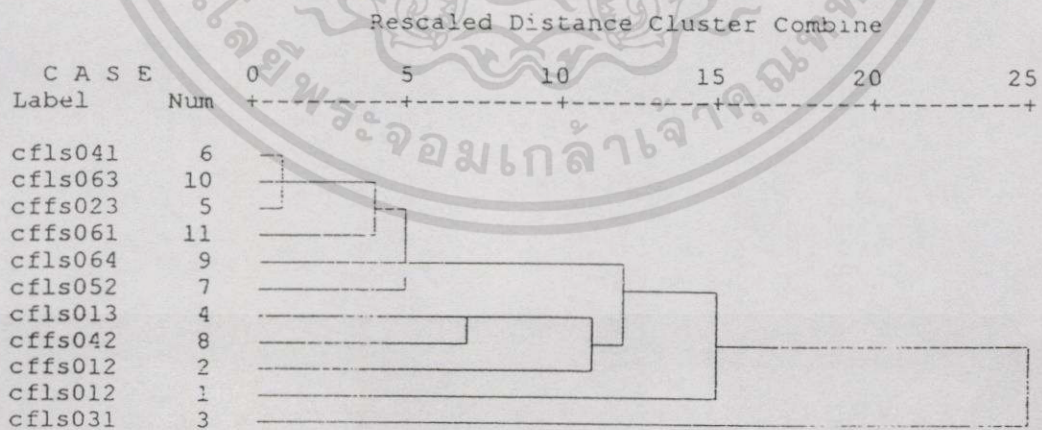
โดยเทคนิค SPSS - PAGE

ตัวเลขด้านซ้ายแสดงน้ำหนักโมเลกุล (KDa)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0

<i>Colletotrichum</i>	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน										
	แถบ 1	แถบ 2	แถบ 3	แถบ 4	แถบ 5	แถบ 6	แถบ 7	แถบ 8	แถบ 9	แถบ 10	แถบ 11
CFLS012	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CFFS012	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
CFLS031	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1
CFLS013	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CFFS023	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
CFLS041	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
CFLS052	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
CFFS042	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
CFLS064	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
CFLS063	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
CFFS061	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0



ภาพที่ 4.23 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

isolates ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

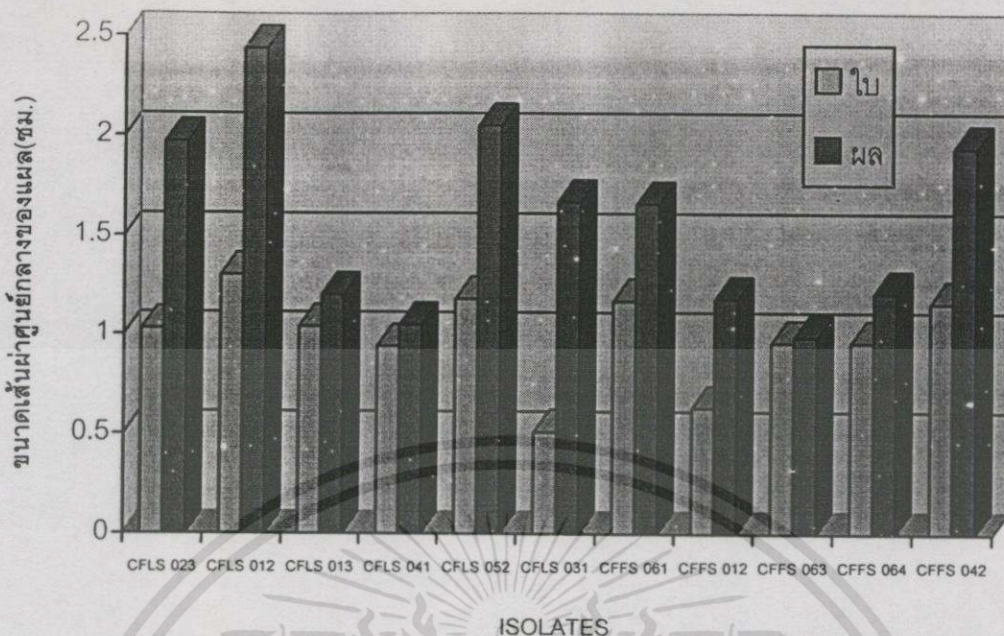
4.1.3 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค(Pathogenicity test)

4.1.3.1 ความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และเชื้อ *Phytophthora parasitica* กับส่วนต่างๆ ของส้ม

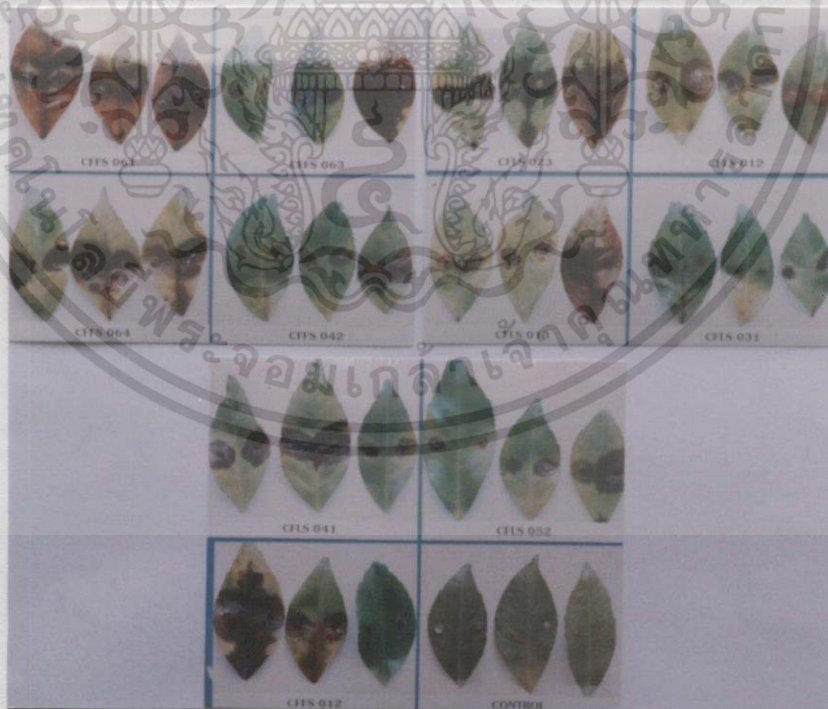
จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates และเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates กับใบและผลของส้มเขียวหวานโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล จากการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* บนใบส้มเขียวหวาน และ บ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน ปรากฏว่าเชื้อราทั้ง 11 isolates ที่แยกได้มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่ง isolate CFLS 012 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบรุนแรงที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 1.30 ซม. ในขณะที่ isolate CFLS 031 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบรุนแรงน้อยที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 0.51 ซม. ส่วนอีก 9 isolates มีความสามารถทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.24) ลักษณะอาการหลังทำการปลูกเชื้อบนใบส้มเขียวหวาน พบว่าบริเวณที่ปลูกเชื้อจะเป็นแผลจุดสีดำ และขยายวงกว้างออกไปอย่างรวดเร็ว บริเวณแผลจะพบกลุ่มสปอร์สีส้มเจริญเป็นวงแหวนหรือมีเส้นใยสีขาวปกคลุมบริเวณแผล เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่พบอาการของโรค (ภาพที่ 4.25)

ส่วนบนผลส้มเขียวหวาน หลังจากทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* บ่มไว้ในสภาพเดียวกันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 11 isolates มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่า isolate CFLS 012 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนผลรุนแรงที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 2.44 ซม. รองลงมาคือ isolate CFLS 052, CFLS 023 และ CFFS 042 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 2.05, 1.97 และ 1.94 ซม. ตามลำดับ ส่วน isolate CFFS 063 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 0.99 ซม. ส่วน isolate CFLS 013, CFLS 041, CFFS 012 และ CFFS 064 พบว่ามีความสามารถทำให้เกิดโรคบนส่วนของผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.24) ลักษณะอาการหลังทำการปลูกเชื้อบนผลส้มเขียวหวาน พบว่าบริเวณที่ปลูกเชื้อจะเป็นแผลจุดสีน้ำตาลถึงดำ และขยายวงกว้างอย่างช้าๆ เนื้อเยื่อบริเวณแผลจะยุบลง และพบเส้นใยสีขาวปกคลุมบริเวณแผล เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่ปรากฏอาการของโรค (ภาพที่ 4.26)

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเชื้อ พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบและผลของส้มเขียวหวาน รุนแรงมากที่สุดซึ่งคัดเลือก isolate ดังกล่าวใช้ในการทดลองต่อไป

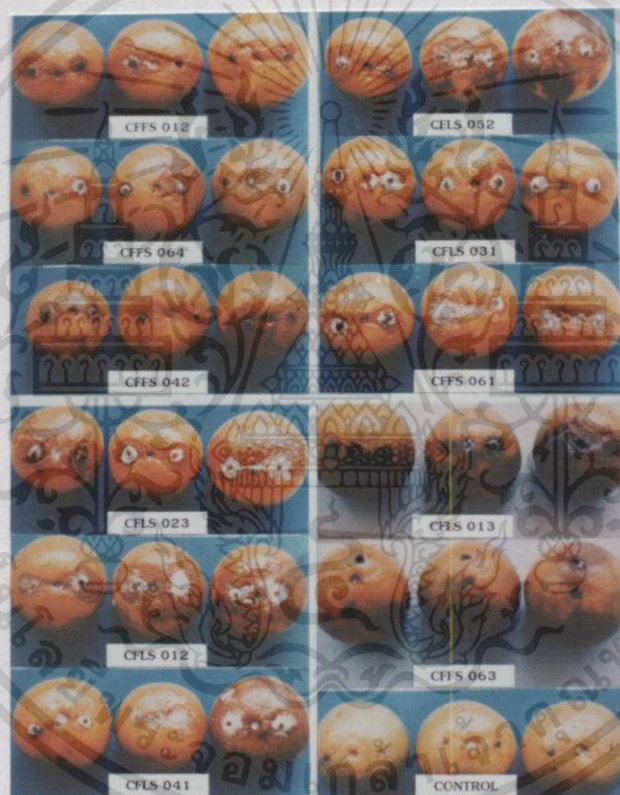


ภาพที่ 4.24 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz.& Sacc. แต่ละ isolates โดยการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบและผลส้มเขียวหวาน หลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน



ภาพที่ 4.25 ลักษณะอาการของโรคหลังทำการปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz.& Sacc. แต่ละ isolates ลงบนใบส้มเขียวหวานที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

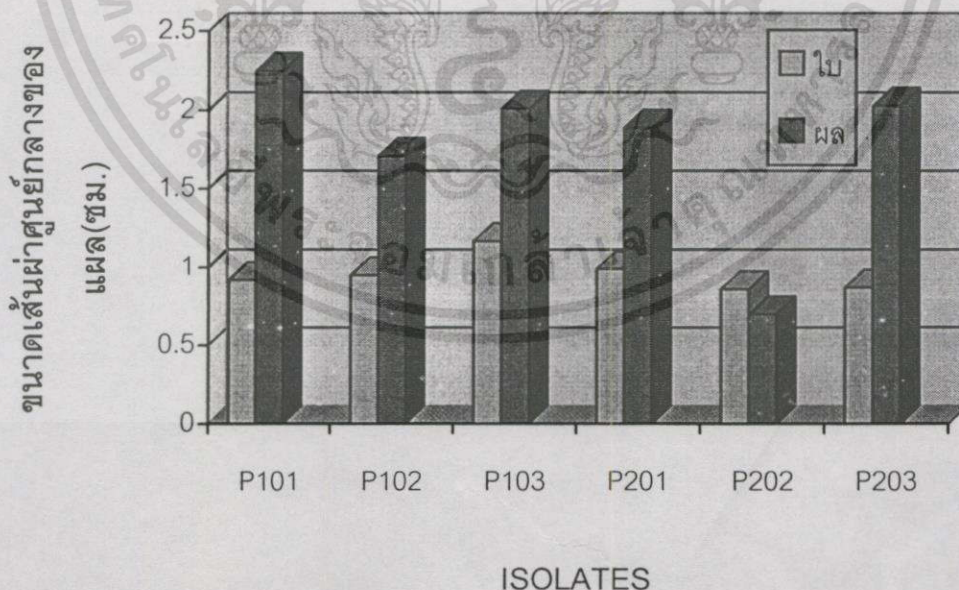


ภาพที่ 4.26 ลักษณะอาการของโรคหลังทำการปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. แต่ละ isolates ลงบนผลส้มเขียวหวาน ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการปลูกเชื้อ *P. parasitica* บนส่วนของใบส้มเขียวหวาน และบ่มไว้ภายใต้สภาพอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 6 isolates ที่แยกได้มีความสามารถทำให้เกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.27) ลักษณะอาการหลังทำการปลูกเชื้อบนใบส้มเขียวหวาน พบว่าบริเวณที่ปลูกเชื้อเป็นแผลสีดำ และเจริญลุกลามอย่างรวดเร็วใบจะเปลี่ยนเป็นสีดำและเน่าในที่สุด (ภาพที่ 4.28) ส่วนบนผลส้มเขียวหวาน หลังทำการปลูกเชื้อ *P. parasitica* และบ่มไว้ในสภาพเดียวกัน เป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 6 isolates ที่แยกได้มีความสามารถทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่า isolate P101 มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงมากที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 2.25 ซม. รองลงมาคือ isolate P203, P103 และ P201 โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเฉลี่ยเท่ากับ 2.03, 2.01 และ 1.89 ซม. ตามลำดับ ส่วน isolate P102 และ P202 มีความสามารถทำให้เกิดโรคน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.27) ลักษณะอาการหลังทำการปลูกเชื้อบนผลส้มเขียวหวาน พบว่าบริเวณที่ปลูกเชื้อเป็นแผลสีน้ำตาลดำถึงดำ และเจริญลุกลามอย่างรวดเร็ว เนื้อเยื่อจำน้ำไม่ยุบตัว และเน่าทั้งผลในที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ control ไม่พบอาการของโรค (ภาพที่ 4.29)

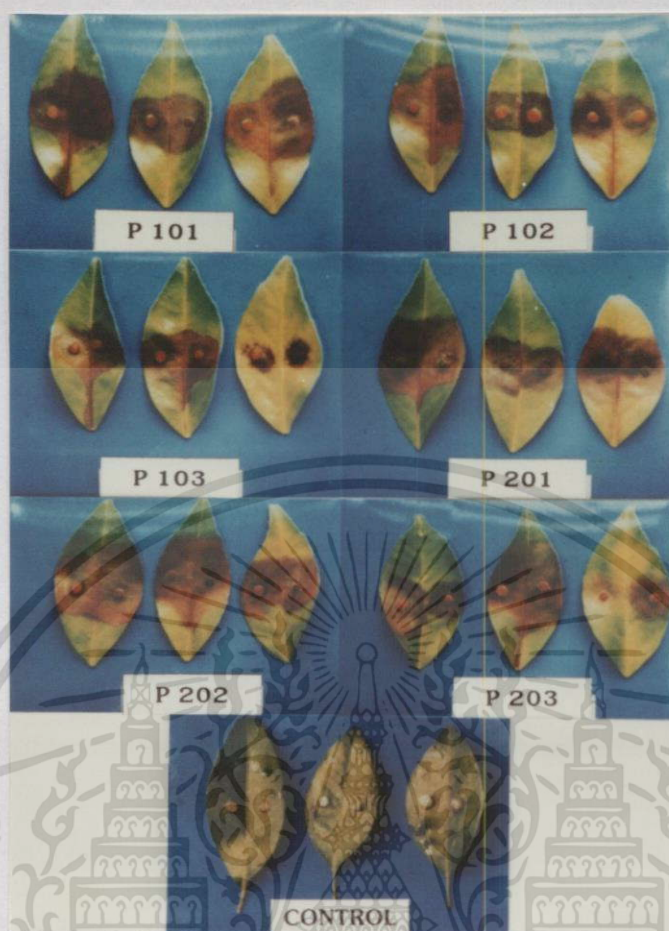
จากการทดลองข้างต้น พบว่าเชื้อ *P. parasitica* isolate P101 มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบและผลของส้มเขียวหวานรุนแรงมากที่สุด ซึ่งได้คัดเลือก isolate ดังกล่าวใช้ในการทดลองต่อไป



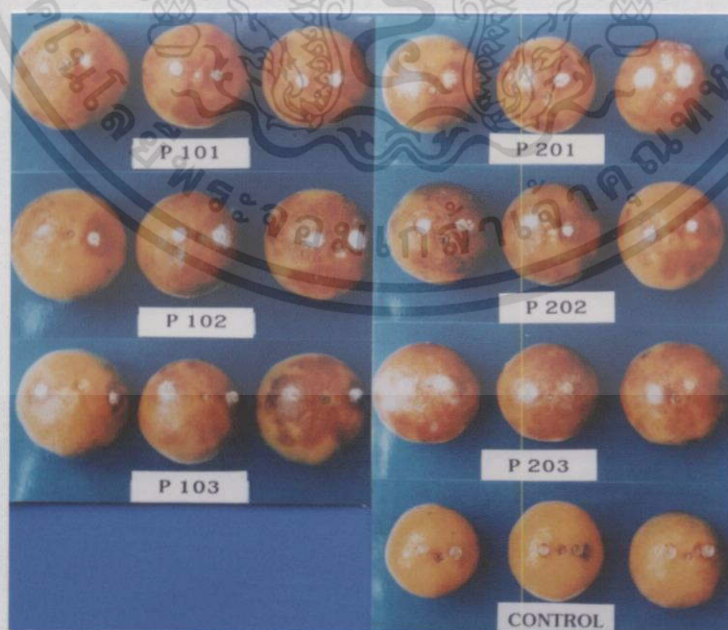
ภาพที่ 4.27 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dust แต่ละ isolates โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบและผลของส้ม

เขียวหวาน หลังจากปลูกเชื้อได้ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.28 ลักษณะอาการของโรคหลังทำการปลูกเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dust แต่ละ isolates ลงบนใบส้มเขียวหวาน ที่อายุ 7 วัน



ภาพที่ 4.29 ลักษณะอาการของโรคหลังทำการปลูกเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dust แต่ละ isolates ลงบนผลส้มเขียวหวาน ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคร่วมกัน (Pathogenicity of Disease Complex)

จากการปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS 012 โดยให้ spore suspension ที่ระดับความเข้มข้น 2.5×10^6 spore/ml. บนใบของต้นกล้าส้มเขียวหวาน อายุ 3 เดือน ในปริมาณต้นละ 20 มิลลิลิตรต่อ 10 ใบ และปลูกเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 โดยให้ sporangium suspension ที่ระดับความเข้มข้น 2.8×10^6 sporangium/ml. ที่ส่วนโคนและรากต้นกล้าส้มเขียวหวานในต้นเดียวกัน ในปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อต้น ซึ่งเป็นการปลูกเชื้อ 2 isolates ลงบนต้นเดียวกัน และแยกต้น จากการทดลองพบว่าการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ชนิดเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสที่ใบเท่ากับ 62.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแสดงระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ยเท่ากับ 1.62 (ตารางที่ 4.4) หลังจากปลูกเชื้อได้ 21 วัน ซึ่งปรากฏลักษณะอาการพบจุดสีน้ำตาลถึงดำบนใบ และขยายวงกว้างอย่างรวดเร็ว ตรงบริเวณแผลจะโปร่งแสง บางครั้งพบกลุ่มสปอร์เจริญรอบเป็นวงแหวน และใบจะร่วงในที่สุด (ภาพที่ 4.30-4.32) และการปลูกเชื้อ *P. parasitica* ชนิดเดียวมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.12 (ตารางที่ 4.4) หลังจากการปลูกเชื้อได้ 30 วัน มีลักษณะอาการต้นล้มเริ่มโทรมลง ใบซีดเหลือง และร่วงลง พบกิ่งแห้งตายจากยอด เมื่อขุดดูที่รากพบรากมีลักษณะเปื่อยยุ่ย (ภาพที่ 4.32) สำหรับการปลูกเชื้อทั้งสองชนิด ลงบนต้นเดียวกัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร่วมสูงสุด กล่าวคือเกิดโรคแอนแทรคโนส 50 เปอร์เซ็นต์ และโรครากเน่าโคนเน่า 87.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปลูกเชื้อได้ 30 วัน (ตารางที่ 4.4) ลักษณะอาการพบว่าจากการปลูกเชื้อทั้งสองชนิดลงบนต้นเดียวกันต้นของส้มเขียวหวานโทรมลงและตายอย่างรวดเร็ว โดยพบอาการบนใบมีลักษณะเป็นแผลจุดสีน้ำตาล และขยายวงกว้างและใบร่วงอย่างรวดเร็ว และมีอาการกิ่งแห้งตายจากยอด ต้นล้มโทรมลงโคนเน่าและรากเน่าและตายในที่สุด (ภาพที่ 4.30-4.32)

ตารางที่ 4.4 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส และโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลอง ที่อายุ 30 วัน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค		เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ¹⁾	
	แอนแทรกโนส	รากเน่าโคนเน่า	แอนแทรกโนส	รากเน่าโคนเน่า
<i>C. gloeosporioides</i>	1.62 bc ²⁾	-	62.50	-
<i>P. parasitica</i>	-	2.12 ab	-	75.00
<i>C. gloeosporioides</i> / <i>P. parasitica</i>	1.12 c	2.87 a	50.00	87.50
Control	-	-	-	-

¹⁾ Disease Incidence (% การเกิดโรค) = จำนวนต้นที่เกิดโรค/จำนวนต้นทั้งหมด x 100

²⁾ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ DMRT ที่ P = 0.01



ภาพที่ 4.30 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคร่วมกันของส้มเขียวหวานหลังจากปลูกเชื้อ

Colletotrichum gloeosporioides isolate CFLS 012 และเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 ที่อายุ 30 วัน

ก = ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control)

ข = ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012

ค = ปลูกเชื้อ *P. parasitica* isolate P101

ง = ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ร่วมกับเชื้อ *P. parasitica*

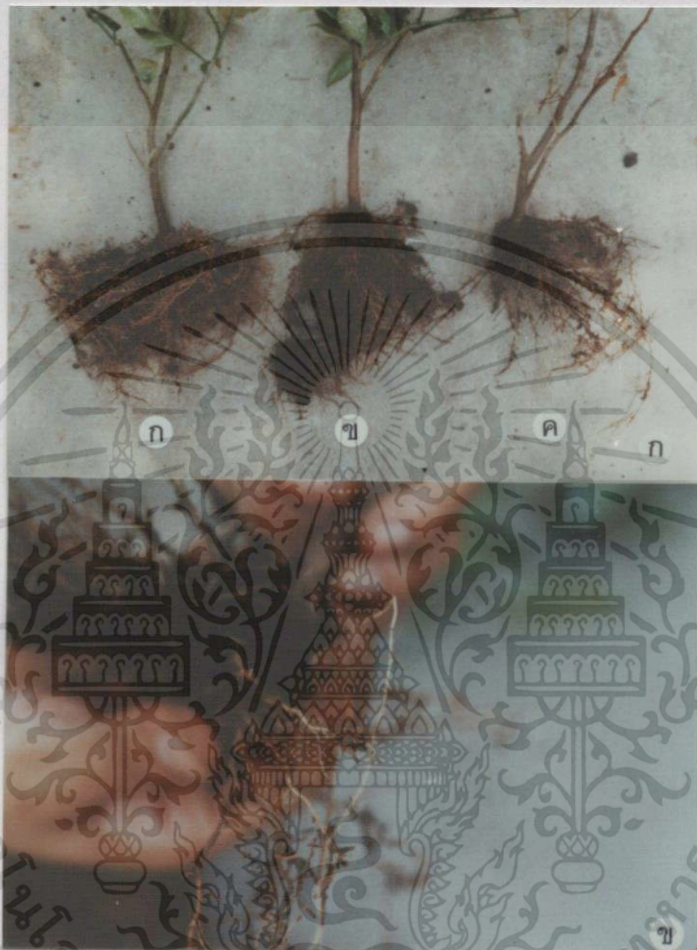
isolate P101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.31 ลักษณะอาการโรคบนใบส้มเขียวหวานจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค
ร่วมกันของส้มเขียวหวาน หลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*
isolate CFLS 012 และเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 ที่อายุ 30 วัน
ก = ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control)
ข = ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012
ค = ปลูกเชื้อ *P. parasitica* isolate P101
ง = ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ร่วมกับเชื้อ *P. parasitica*
isolate P101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.32 ลักษณะอาการโรครากเน่าจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคร่วมกันของ
 ส้มเขียวหวานหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS
 012 และเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 ที่อายุ 30 วัน

ก= เปรียบเทียบลักษณะอาการส่วนของรากส้มโดย

(ก) = ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control)

(ข) = ปลูกเชื้อ *P. parasitica* isolate P101

(ค) = ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ร่วมกับเชื้อ

P. parasitica isolate P101

ข = ภาพขยายส่วนรากที่ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS

012 ร่วมกับเชื้อ *P. parasitica* isolate P101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง และอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้าน

จากการทดลองพบว่าเชื้อ *P. parasitica* isolate P101 ได้รับอิทธิพลร่วมระหว่างสามปัจจัย คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ต่าง (pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตโคโลนีของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิด ที่ทดสอบ ทุกระดับ pH ที่ป่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 5.5 ซม. ส่วนวิธีการที่เชื้อราเจริญน้อยที่สุดคือบนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกระดับ ที่ป่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.4 ซม.(ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.33-4.36)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. parasitica* isolat P101 ได้รับอิทธิพลของ 3 ปัจจัยร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ต่าง (pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่ป่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณการสร้าง sporangium เฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 0.45×10^6 sporangia/ml. รองลงมาคือบนอาหาร SDA ที่ระดับ pH 3 ที่ป่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และบนอาหาร CSA ที่ระดับ pH 6 ที่ป่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.36×10^6 และ 0.36×10^6 sporangia/ml. ส่วนบนอาหารทุกชนิดที่ระดับ pH ทุกระดับ ที่ป่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการสร้างปริมาณ sporangia ของเชื้อ *P. parasitica* (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.5 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dust isolate P101 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>Phytophthora parasitica</i> (ซม.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 b ¹	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
SDA	10	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
CSA	10	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
CDA	10	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b	0.40 b

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดย เปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test., C.V(%) = 50.52

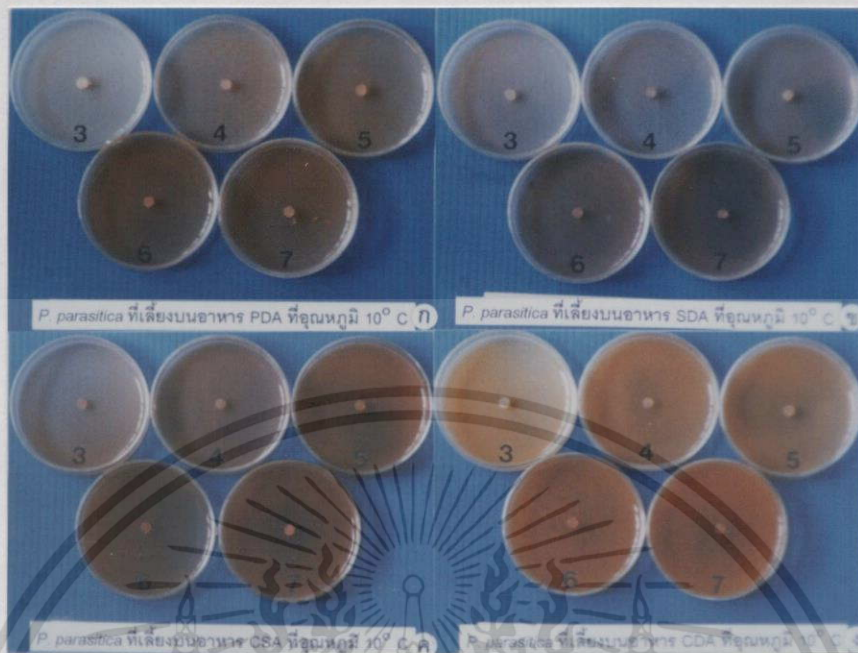
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* Dust isolate P101 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

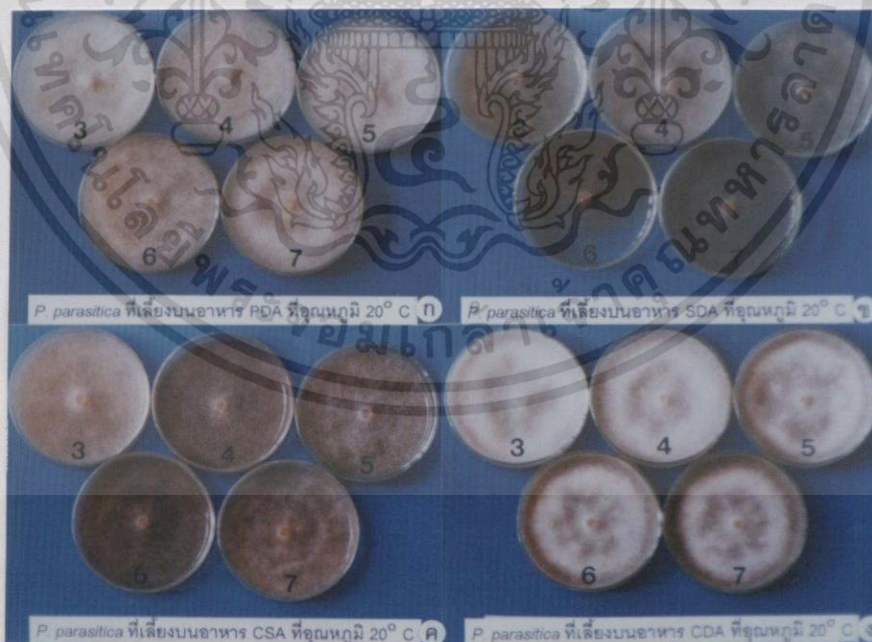
อาหาร	อุณหภูมิ	ปริมาณการสร้าง sporangia ($\times 10^6$ /มล.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 k ¹	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
	20	0.19 defghij	0.15 fghij	0.09 hijk	0.21cdefghij	0.21 defghij
	30	0.16 fghij	0.21 cdefghij	0.25 bcdefg	0.22 bcdefghi	0.45 a
	40	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.0 k
SDA	10	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
	20	0.36 ab	0.12 ghijk	0.11 ghijk	0.27 bcdef	0.17 efg hij
	30	0.31 abcde	0.09 hijk	0.16 fghij	0.28 bcdef	0.21 defghij
	40	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
CSA	10	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
	20	0.12 ghijk	0.11 ghijk	0.16 fghij	0.36 abc	0.30 bcdef
	30	0.20 defghij	0.23 bcdefgh	0.16 fghij	0.28 bcdef	0.21 defghij
	40	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
CDA	10	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k
	20	0.11 ghijk	0.11 ghijk	0.16 fghij	0.08 ijk	0.07 jk
	30	0.16 fghij	0.27 bcdef	0.21 defghij	0.22 bcdefghi	0.32 abcd
	40	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k	0.00 k

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V(%) = 63.95.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.33 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

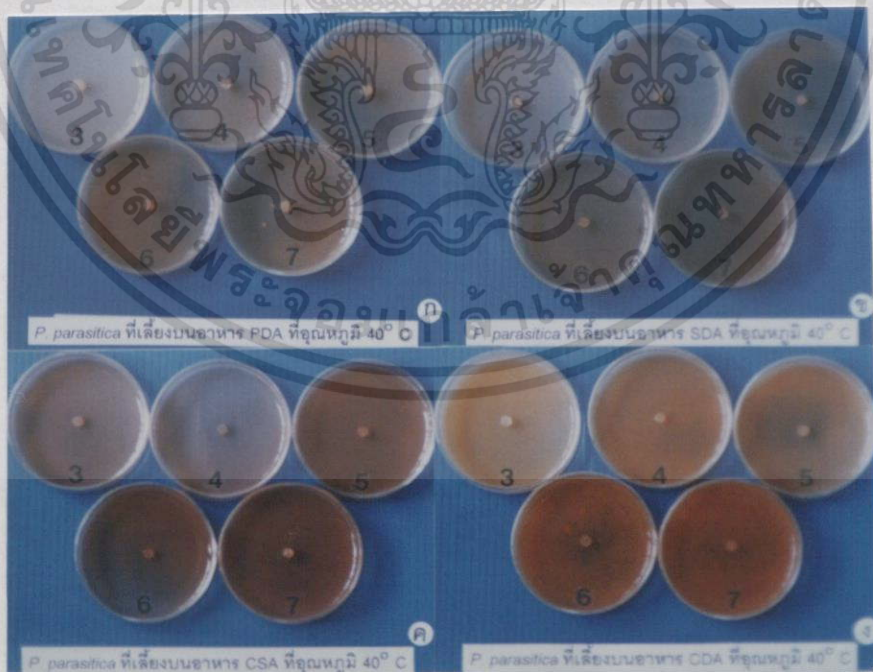


ภาพที่ 4.34 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.35 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.36 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* isolate P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองในเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างสามปัจจัยคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ พบว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, SDA, CSA ที่ทดสอบ ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส และบนอาหาร CDA ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 5.5 ซม. รองลงมาคือบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH 4, 6, 3, 7 และ 5 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.54, 4.50, 4.49, 4.47 และ 4.34 ซม. ตามลำดับ ส่วนบนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกระดับ ที่บ่มไว้ภายใต้ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีน้อยที่สุดเท่ากับ 0.4 ซม. (ตารางที่ 4.7, ภาพที่ 4.37-4.40)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 มีความสัมพันธ์กันระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทางสถิติ ซึ่งพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 และ 5 ที่บ่มเชื้อในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อราไม่แตกต่างกันเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 23.75×10^6 และ 22.37×10^6 spore/ml. รองลงมาคือบนอาหาร CDA และ PDA ที่ระดับ pH 7 ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อไม่แตกต่างกัน โดยพบปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อเท่ากับ 18.62×10^6 และ 16.50×10^6 spore/ml. ตามลำดับ ส่วน Treatment combination ที่มีผลต่อปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อน้อยที่สุดคือบนอาหาร PDA, CDA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส และบนอาหาร SDA, CSA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ภายใต้อุณหภูมิทุกระดับ (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.7 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc isolate CFLS 012 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> isolate CFLS 012 (ซม.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 e ^{1/}	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
SDA	10	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
CSA	10	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
CDA	10	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e
	20	4.49 c	4.54 b	4.34 d	4.50 c	4.47 c
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e	0.40 e

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V.(%) = 51.55

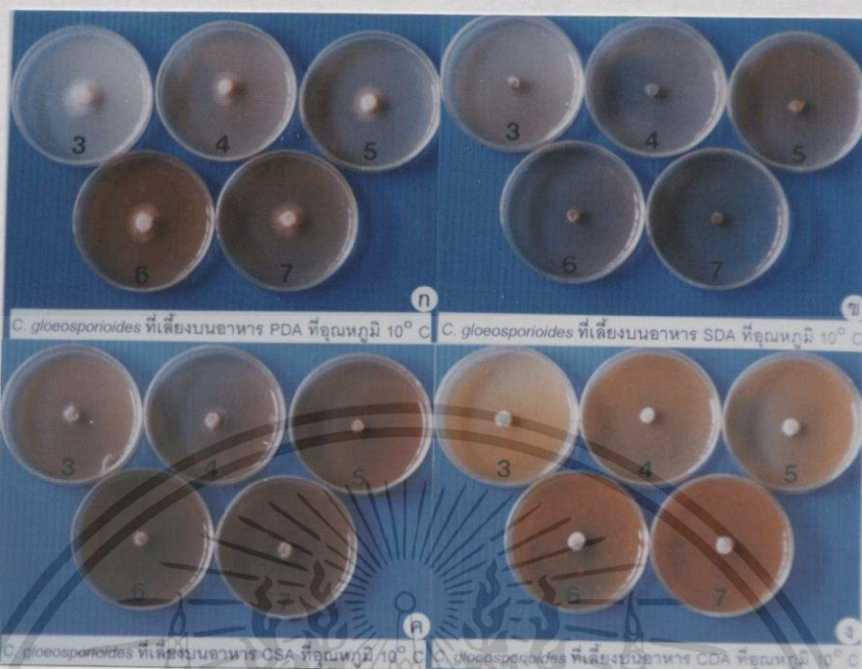
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc isolate CFLS 012 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> CFLS 012 ($\times 10^6$ /มล.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 h ¹	0.00h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
	20	1.62 h	6.12 g	11.25 cde	10.00 cdef	16.50 b
	30	8.75 defg	7.12 fg	22.37 a	11.62 cd	23.75 a
	40	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
SDA	10	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
	20	0.87 h	1.50 h	1.87 h	2.25 h	1.75 h
	30	2.51 h	1.68 h	0.80 h	0.88 h	0.38 h
	40	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.0 h
CSA	10	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
	20	0.87 h	0.62 h	0.50 h	0.62 h	0.75 h
	30	0.50 h	0.78 h	0.38 h	0.50 h	2.01 h
	40	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
CDA	10	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h
	20	2.12 h	6.00 g	12.75 c	7.50 efg	10.00 cdef
	30	7.62 efg	11.00 cde	11.37 cde	12.25 cd	18.62 b
	40	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h	0.00 h

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V.(%) = 61.59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.37 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS 012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

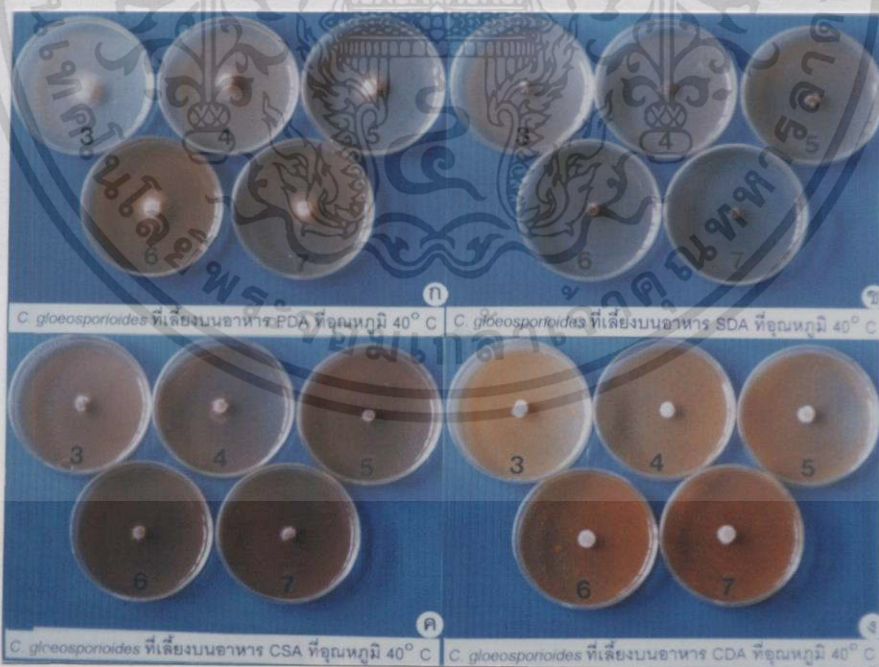


ภาพที่ 4.38 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS 012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.39 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS 012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.40 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* isolate CFLS 012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* PC01 พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างสามปัจจัยคืออาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ มีผลต่อการเจริญเติบโตโคโลนีของเชื้ออย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดที่ทดสอบทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 5.50 ซม. ในขณะที่บนอาหารทุกชนิด ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีเจ็ลน้อยที่สุดเท่ากับ 0.4 ซม. (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.41-4.44)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* จะได้รับอิทธิพลของ 3 ปัจจัยร่วมกันคือ ระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อเจ็ลมากที่สุดเท่ากับ 370×10^6 spore/ml. รองลงมาคือบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH 6 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาหาร PDA ที่ระดับ pH 6 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอาหาร CSA ที่ระดับ pH 3 ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อเจ็ลเท่ากับ 285.00×10^6 , 282.50×10^6 , 266.50×10^6 spore/ml. ตามลำดับ ส่วน Treatment combination ที่มีผลต่อปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อเจ็ลน้อยที่สุดคือ บนอาหาร PDA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ที่บ่มไว้ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส อาหาร SDA, CSA และ CDA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 20 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.9 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC101 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>T. harzianum</i> PC101(ซม.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 d ¹	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
SDA	10	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
CSA	10	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	3.00 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
CDA	10	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	4.06 b
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d	0.40 d

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test. C.V(%) = 2.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

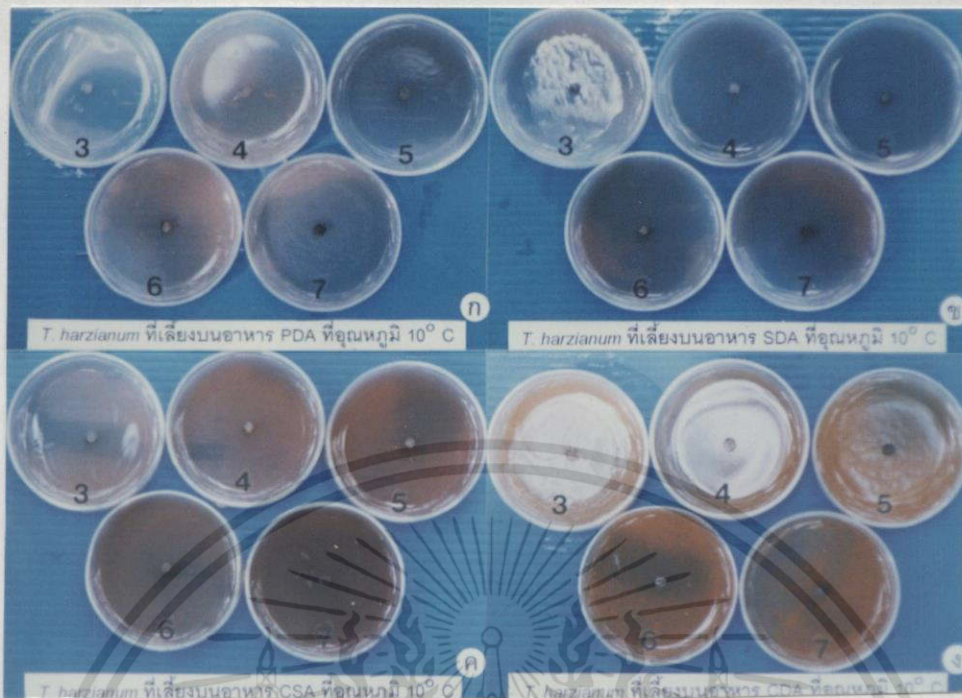
ตารางที่ 4.10 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC101

บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

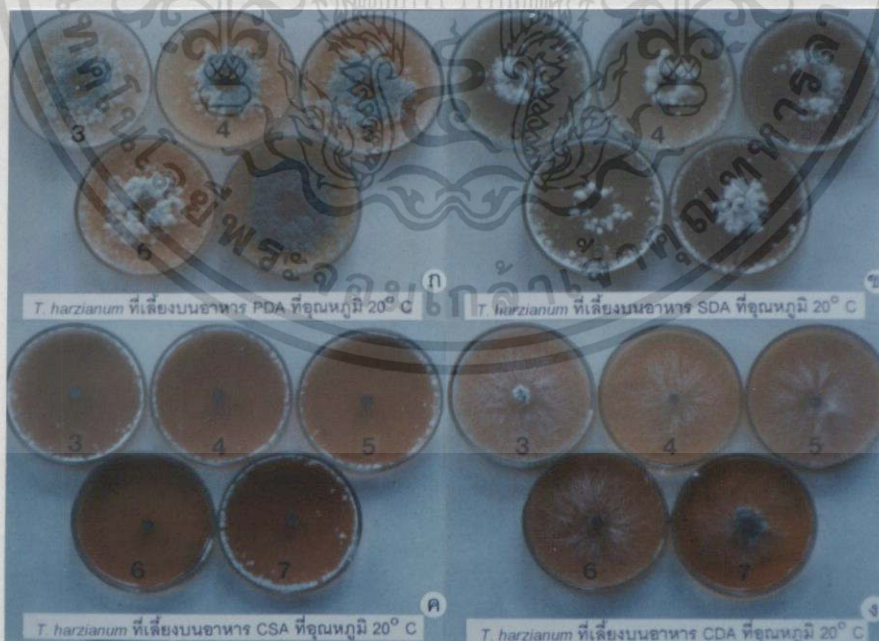
อาหาร	อุณหภูมิ	ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>T. harzianum</i> PC101 ($\times 10^6$ /มล.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 j ¹	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j
	20	76.50 l	119.75 ghi	145.63 efg	140.88 efg	205.13 cd
	30	114.00 efg	145.50 efg	282.50 b	238.00 bc	370.00 a
	40	1.75 j	1.63 j	2.00 j	2.38 j	2.75 j
SDA	10	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j
	20	16.75 j	14.38 j	9.50 j	13.63 j	27.38 j
	30	189.00 de	172.50 def	135.00 fgh	92.00 hi	174.50 def
	40	3.38 j	3.50 j	5.63 j	7.88 j	3.38 j
CSA	10	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j
	20	17.00 j	15.88 j	9.10 j	7.25 j	18.63 j
	30	266.50 b	187.50 de	140.00 efg	145.00 efg	184.00 def
	40	1.50 j	4.63 j	3.50 j	4.00 j	2.25 j
CDA	10	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j	0.00 j
	20	17.00 j	16.88 j	24.63 j	18.75 j	19.88 j
	30	236.00 bc	241.50 bc	174.50 def	285.00 b	183.50 def
	40	2.38 j	4.00 j	3.75 j	1.88 j	2.63 j

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range test, C.V(%) = 38.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

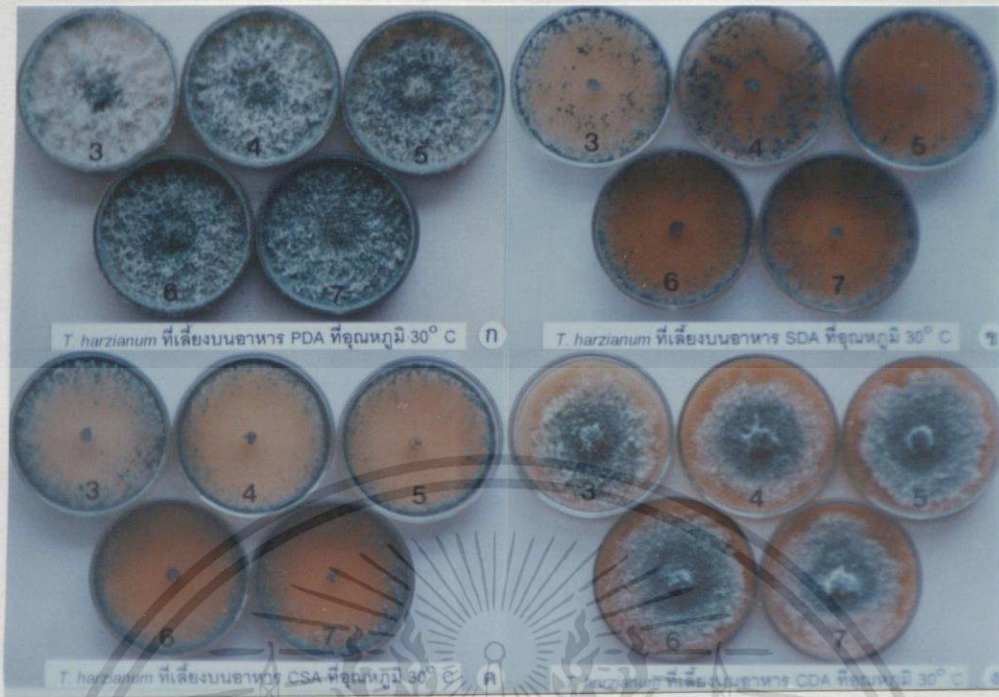


ภาพที่ 4.41 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.42 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.43 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.44 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *T. hamatum* PC02 ได้รับอิทธิพลของ 3 ปัจจัยร่วมกัน คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร PDA, SDA, CSA ที่ทดสอบทุกระดับ pH ที่ป่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 30 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส และบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 5.50 ซม. รองลงมาคือบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH 6, 7 ที่ป่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และอาหาร CDA ที่ระดับ pH 3 ที่ป่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.24, 4.11 และ 4.00 ซม. ตามลำดับ ส่วนบนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกชนิด ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อการเจริญของเชื่อน้อยที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.4 ซม.(ตารางที่ 4.11, ภาพที่ 4.45-4.48)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ *T. hamatum* PC02 ได้รับอิทธิพลของ 3 ปัจจัย ร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH 7 ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบการสร้างปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 146×10^6 spore/ml. รองลงมาคือบนอาหาร CDA ที่ระดับ pH 7 ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าการสร้างปริมาณสปอร์ของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 142×10^6 spore/ml. ส่วนบนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกระดับ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อาหาร SDA, CSA ที่ทุกระดับ pH ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาหาร SDA, CSA ที่ระดับ pH 3, 4, 5 และ 7 ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และอาหาร CDA ที่ระดับ pH ทุกระดับ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีการสร้างปริมาณสปอร์ของเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีการสร้างปริมาณสปอร์ของเชื่อน้อยที่สุด (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.11 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>T. hamatum</i> PC02 (ซม.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 f ^{1/}	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
SDA	10	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.38 a
CSA	10	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	3.00 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
CDA	10	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f	0.40 f
	20	4.00 bcd	2.80 e	3.61 d	3.78 cd	2.76 e
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	3.86 bcd	2.78 e	3.16 e	4.24 b	4.11 bc

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V(%) = 5.27

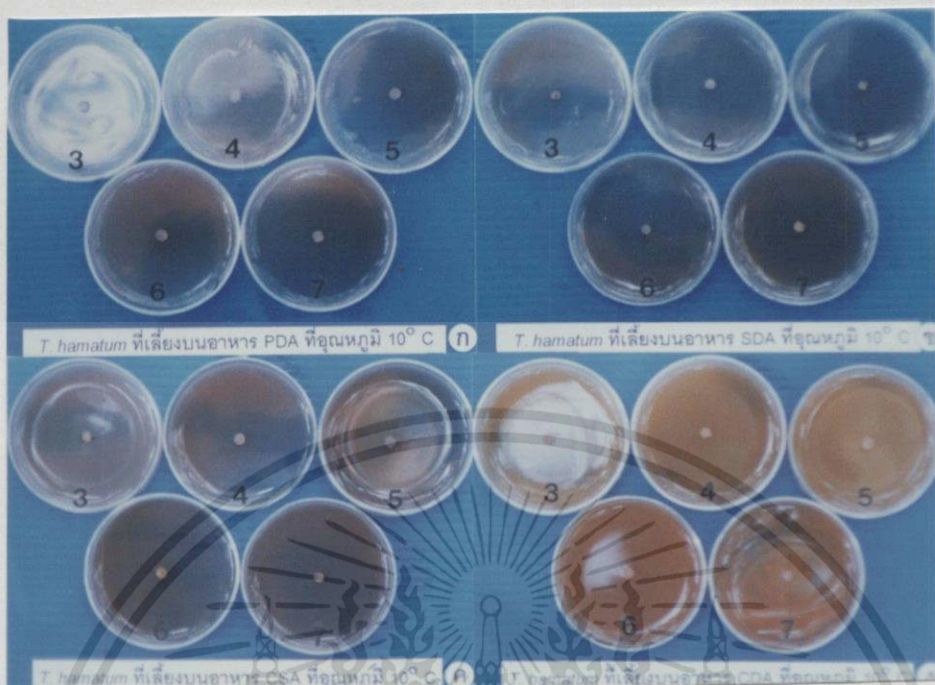
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ปริมาณการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

		ปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>T. hamatum</i> PC02 ($\times 10^6$ /มล.)				
อาหาร	อุณหภูมิ	ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 l ¹	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	20	44.75 fgghi	100.13 bc	38.75 fgghi	107.75 abc	46.63 efghi
	30	54.00 defgh	80.00 cdef	77.00 cdefg	79.50 cdef	79.00 cdef
	40	9.38 hi	33.00 ghi	13.75 hi	6.75 hi	25.63 hi
SDA	10	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	20	6.13 l	2.75 l	3.88 l	10.13 hi	4.75 l
	30	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	40	22.38 hi	5.00 l	8.13 hi	7.75 hi	8.63 hi
CSA	10	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	20	3.88 l	4.00 l	7.50 hi	2.50 l	2.75 l
	30	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	40	7.00 hi	2.88 l	24.38 hi	4.88 l	9.00 hi
CDA	10	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l	0.00 l
	20	93.38 cd	40.13 fgghi	90.38 cde	116.75 abc	142.00 ab
	30	19.50 hi	102.00 bc	104.25 abc	32.75 ghi	146.00 a
	40	2.00 i	2.50 i	2.50 ij	4.88 i	3.13 i

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test., C.V(%) = 91.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

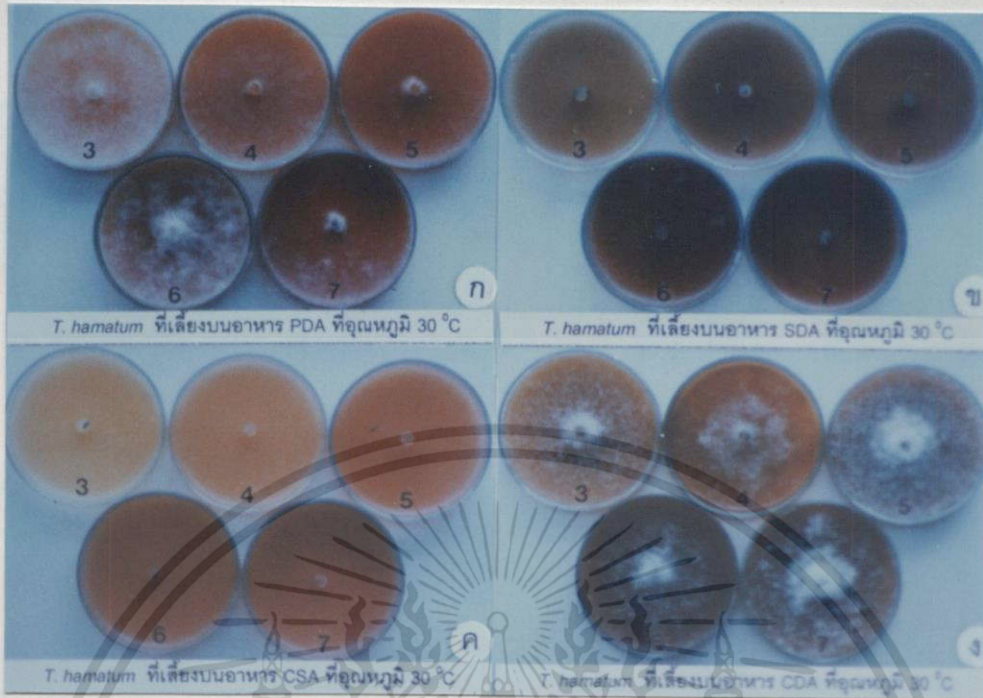


ภาพที่ 4.45 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.46 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA การค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.47 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่ปมเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.48 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่ปมเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA การค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Ch. globosum* CG จะได้รับอิทธิพลของสามปัจจัยร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 3, 6 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อาหาร SDA ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส อาหาร CSA ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอาหาร CDA ที่ระดับ pH 3, 4, 5 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อาหาร CDA ที่ระดับ pH 3 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 5.50 ซม. รองลงมาคือบนอาหาร CSA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาหาร CDA ที่ระดับ pH 5 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาหาร PDA ที่ระดับ pH 5 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และที่ระดับ pH 6 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 5.29, 5.27, 5.25 และ 5.20 ซม. ตามลำดับ ส่วนบนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส มีการเจริญของเชื้อเฉลี่ยน้อยที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.4 ซม.(ตารางที่ 4.13, ภาพที่ 4.49-4.52)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้าง ascospore ของเชื้อ *Ch. globosum* จะได้รับอิทธิพลของสามปัจจัยร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลทำให้การสร้างปริมาณ ascospore ของเชื้อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และอาหาร CDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการสร้างปริมาณ ascospore ของเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณ ascospore ของเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 200×10^6 และ 170.50×10^6 ascospore/ml. ตามลำดับ รองลงมาคืออาหาร PDA ที่ระดับ pH 6 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และอาหาร CDA ที่ระดับ pH 4 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบการสร้าง ascospore ของเชื้อไม่แตกต่างกัน โดยมีปริมาณการสร้าง ascospore ของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 121.50×10^6 และ 121.07×10^6 ascospore/ml. ขณะที่บนอาหารทุกชนิด ที่ระดับ pH ทุกชนิดที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการสร้าง ascospore ของเชื้อ (ตารางที่ 4.14)

ตารางที่ 4.13 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

		เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>Ch. globosum</i> CG (ซม.)				
อาหาร	อุณหภูมิ	ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 i ¹	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
	20	5.50 a	4.85 bcde	5.25 abcdi	5.50 a	4.41 ef
	30	4.80 de	4.81 cde	4.80 de	5.25 abcd	5.15 abcd
	40	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
SDA	10	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	30	5.50 a	5.44 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a
	40	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
CSA	10	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
	20	3.88 gh	3.88 gh	3.95 gh	0.40 i	4.29 fg
	30	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.29 ab
	40	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
CDA	10	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i
	20	5.50 a	5.50 a	5.50 a	5.18 abcd	3.51 h
	30	5.50 a	4.46 ef	5.27 abc	4.94 bcd	3.80 h
	40	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i	0.40 i

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V.(%) = 8.30

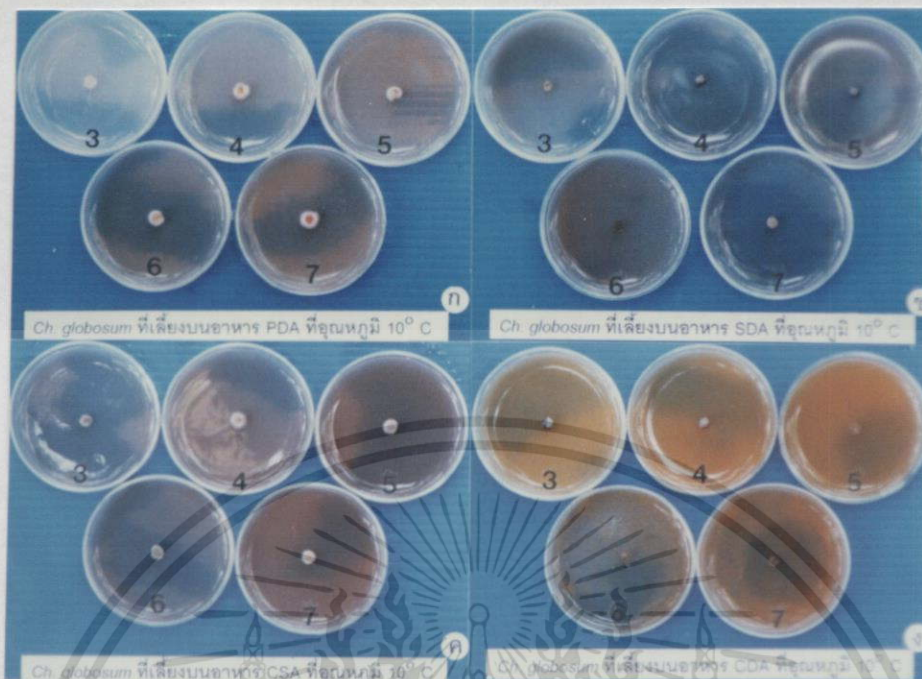
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ปริมาณการสร้างจำนวน ascospore ของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 30 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	ปริมาณการสร้าง ascospore ของเชื้อ <i>Ch. globosum</i> CG (x 10 ⁶ /มล.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 I ^v	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
	20	108.00 bc	81.62 bcdef	90.75 bcde	121.50 b	200.06 a
	30	45.34 fghijk	45.26 fghijk	61.20 defgh	45.85 fghijk	55.25 efghi
	40	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
SDA	10	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
	20	21.63 hijkl	19.50 hijkl	69.63 cdefg	86.13 bcdef	18.25 b
	30	11.35 ijkl	13.80 ijkl	21.50 hijkl	17.40 hijkl	21.70 hijkl
	40	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
CSA	10	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
	20	28.50 ghijkl	8.50 kl	15.38 ijkl	0.00 I	28.63 ghijkl
	30	9.35 jkl	12.65 ijkl	18.35 hijkl	13.50 ijkl	13.55 ijkl
	40	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.0 I
CDA	10	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I
	20	100.13 bcd	90.00 bcde	81.88 bcdef	104.00 bcd	80.50 bcdef
	30	54.70 efghij	121.07 b	30.40 ghijkl	90.54 bcde	170.50 a
	40	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I	0.00 I

^v ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V(%) = 69.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

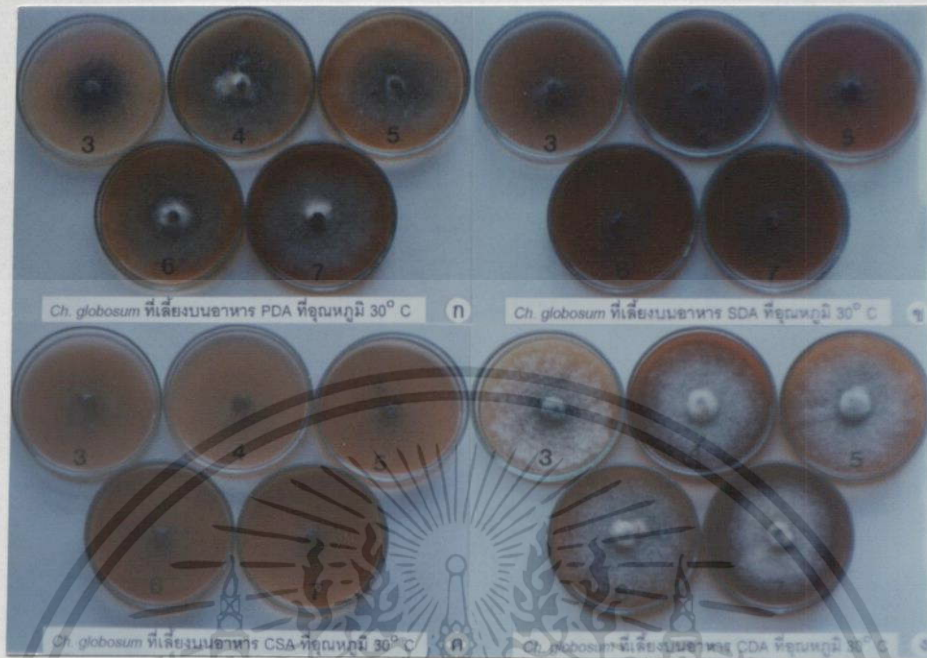


ภาพที่ 4.49 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.50 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA การค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.51 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.52 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่: บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA ในการคัด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Ch. cupreum* CC จะได้รับอิทธิพลของสามปัจจัยร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าอาหาร CSA ที่ระดับ pH 3 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุดเท่ากับ 4.55 ซม. รองลงมาคือบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 4 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาหาร SDA ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอาหาร CSA ที่ระดับ pH 4 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนบนอาหารทุกชนิดที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อน้อยที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.40 ซม.(ตารางที่ 4.15, ภาพที่ 4.53-4.56)

จากการทดลองพบว่าปริมาณการสร้าง ascospore ของเชื้อ *Ch. cupreum* จะได้รับอิทธิพลของสามปัจจัยร่วมกันคือ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง(pH) และอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อปริมาณการสร้าง ascospore ของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 4, 6 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสร้างปริมาณ ascospore ไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีปริมาณ ascospore ของเชื้อเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 24.38×10^6 และ 24.05×10^6 ascospore/ml. ตามลำดับ รองลงมาคือบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 5, 7 และ 3 ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการสร้างปริมาณ ascospore ของเชื้อเท่ากับ 21.17×10^6 , 19.23×10^6 และ 3.75×10^5 ascospore/ml. ตามลำดับ ส่วน treatment combination ที่มีการสร้างปริมาณ ascospore ของเชื้อน้อยที่สุด คือบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 20 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส อาหาร SDA, CSA, CDA ที่ระดับ pH ทุกๆระดับ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิทุกๆระดับ (ตารางที่ 4.16)

ตารางที่ 4.15 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 6 วัน

		เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>Ch. cupreum</i> CC (ซม.)				
อาหาร	อุณหภูมิ	ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.40 v ¹	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v
	20	2.20 hij	2.30 ghi	2.28 ghi	2.28 ghi	2.18 ij
	30	4.14 bc	4.24 b	3.94 cd	3.91 d	3.95 cd
	40	1.89 lmno	1.88 lmno	1.81 mnop	1.74 nop	1.93 klmn
SDA	10	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v
	20	1.80 mnop	2.08 ijkl	2.10 ijkl	2.07 ijkl	2.08 ijkl
	30	4.26 b	4.26 b	4.29 b	4.28 b	4.29 b
	40	2.29 ghi	1.69 opq	1.50 qr	1.70 nopq	1.80 mnop
CSA	10	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v
	20	2.08 ijkl	2.13 ijk	2.00 jklm	2.20 hij	2.18 ij
	30	4.55 a	4.33 b	4.34 ab	4.35 ab	4.35 ab
	40	2.31 ghi	1.60 pq	2.45 fg	2.21 hij	1.59 pq
CDA	10	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v	0.40 v
	20	1.20 st	1.20 st	1.30 rs	0.99 tu	0.98 tu
	30	2.61 f	2.54 f	2.85 e	2.90 e	2.43 fgh
	40	1.02 tu	0.98 tu	0.90 u	1.06 tu	1.02 tu

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test., C.V(%) = 5.69

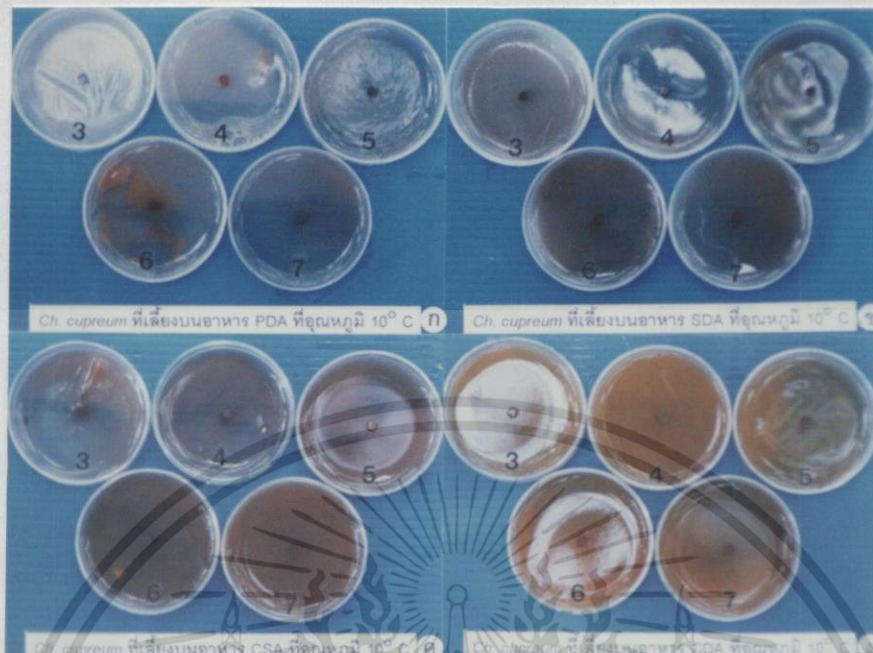
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 ปริมาณการสร้างจำนวน ascospore ของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC 11 ในอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน และบ่มเชื้อในอุณหภูมิต่างกัน ที่อายุ 30 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ	ปริมาณการสร้างจำนวน ascospore ของเชื้อ <i>Ch. cupreum</i> CC ($\times 10^6$ /มล.)				
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง				
		3	4	5	6	7
PDA	10	0.00 d ¹	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	20	0.02 d	0.02 d	0.17 d	0.18 d	1.54 cd
	30	3.75 c	24.38 a	21.17 b	24.05 a	19.23 b
	40	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
SDA	10	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	30	0.09 d	0.04 d	0.06 d	0.06 d	0.11 d
	40	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
CSA	10	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	30	0.04 d	0.09 d	0.05 d	0.03 d	0.03 d
	40	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
CDA	10	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
	30	1.01 d	0.11 d	0.77 d	0.32 d	0.05 d
	40	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, C.V(%) = 116.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

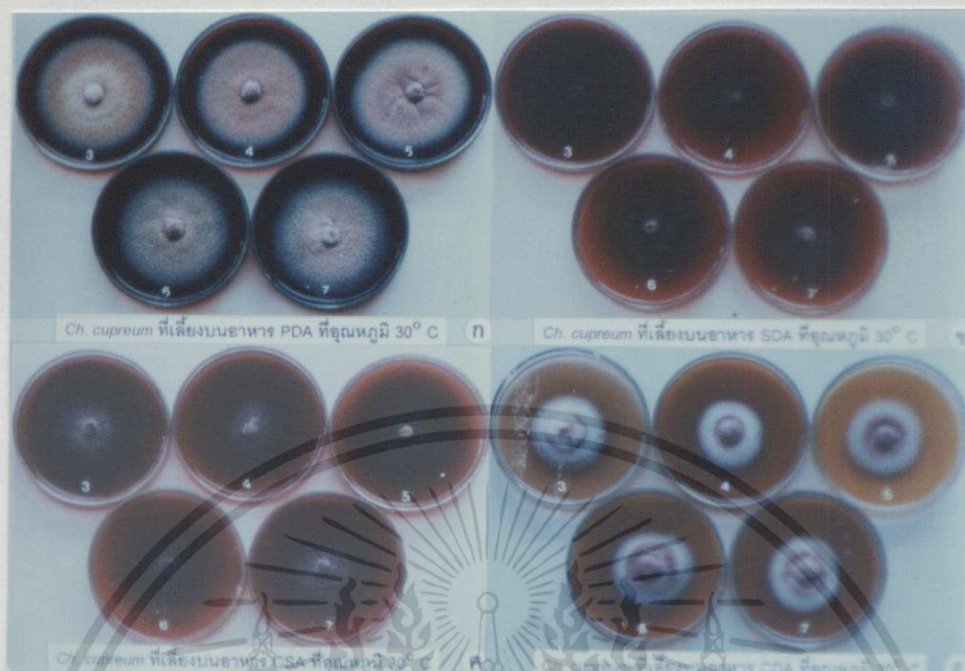


ภาพที่ 4.53 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

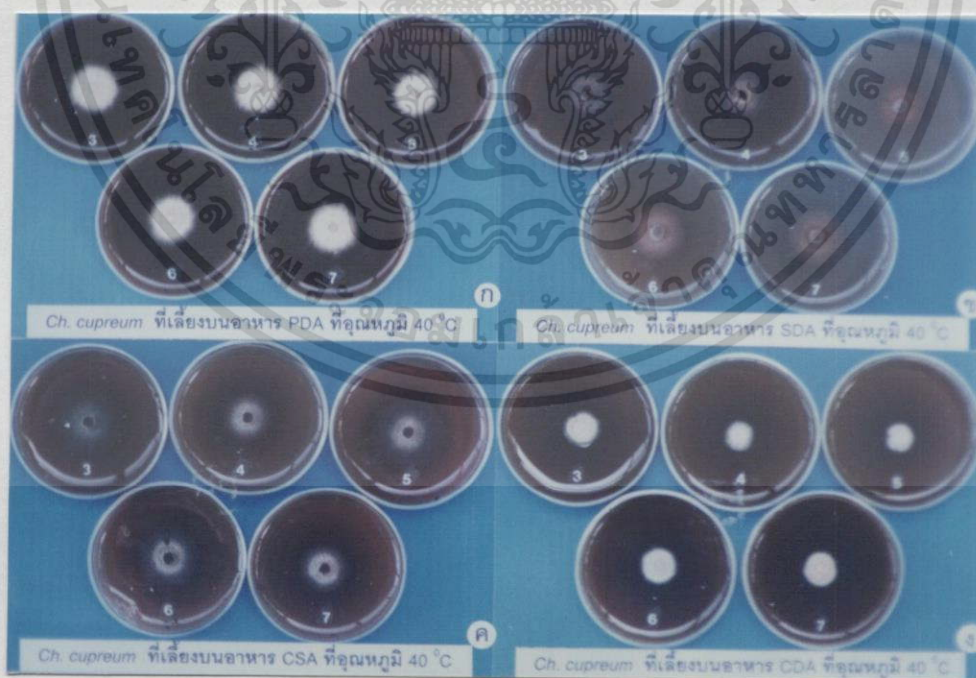


ภาพที่ 4.54 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
 ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.55 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน
ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA



ภาพที่ 4.56 การเจริญเติบโตของเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับ pH ต่างกัน ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อายุ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... ก. บนอาหาร PDA ข. บนอาหาร SDA ค. บนอาหาร CSA ง. บนอาหาร CDA การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi – culture antagonistic test)

จากการเลี้ยงเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS012 สายพันธุ์ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคแอนแทรกคโนสของส้มเขียวหวาน ร่วมกับจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 โดยบ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 65.87 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 99.58 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อ *T. hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 54.91 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 90.84 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อ *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 53.70 และ 51.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 39.54 เปอร์เซ็นต์ และ 50.39 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.17 และ ภาพที่ 4.57)

จากการเลี้ยงเชื้อ *P. parasitica* isolate P101 สายพันธุ์ที่รุนแรงต่อการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ร่วมกับจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 โดยบ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 70.15 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 79.47 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 55.23 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อ *T. hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 66.48 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 61.45 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 48.37 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อ *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 40.06 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 56.29 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 53.24 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อ *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 42.22 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 57.16 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 57.78 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.18-4.19 ภาพที่ 4.58)

จากการศึกษาปฏิกริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านกับการเข้าทำลายเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ *C. gloeosporioides* CFLS012 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนสของส้มเขียวหวาน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* PC01, และ *T. hamatum* PC02 เข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เส้นใยแตกหักเป็นท่อน หรือเส้นใยมีลักษณะผิดปกติ มีผลทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเจริญเติบโตไม่ดี (ภาพที่ 4.59-4.62) สำหรับเชื้อ *C.*

globosum CG และ *Ch. cupreum* CC ส่งผลทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เกิดการสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอก

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวซึ่งอาจเกิดจากสารปฏิชีวนะที่เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสร้างขึ้น แล้วปลดปล่อยออกมาทำลายเซลล์หรือเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคสลายตัว (ภาพที่ 4.63-4.66)

ตารางที่ 4.17 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7

จุลินทรีย์ต่อต้าน	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> CFLS012					
	เปอร์เซ็นต์	ระดับการเกิด	% cv	เปอร์เซ็นต์	ระดับการเกิด	% cv
	ยับยั้งการ	กิจกรรมของ		ยับยั้งการ	กิจกรรมของ	
	เจริญเติบโต	จุลินทรีย์ ^{2/}	สร้างสปอร์	จุลินทรีย์ ^{2/}		
(PI) ^{1/}			(PI) ^{1/}			
<i>T. harzianum</i>	65.87	3	2.75	99.58	4	8.83
<i>T. hamatum</i>	54.91	2	3.15	90.84	4	9.15
<i>Ch. globosum</i>	53.70	2	1.51	39.54	1	21.94
<i>Ch. cupreum</i>	51.91	2	1.09	50.39	1	36.37

^{1/} Percent inhibition (PI) = $(R1 - R2) / R1 \times 100$; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณการสร้างสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณการสร้างสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

^{2/} ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 = Very high antagonistic activity (> 75 PIRG), 3 = High antagonistic activity (61-75 PIRG), 2 = Moderate antagonistic activity (51-60 PIRG), 1 = Low antagonistic activity (< 50 PIRG)

ตารางที่ 4.18 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 บนอาหาร PDA ที่ pH 7

จุลินทรีย์ต่อต้าน	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>P. parasitica</i> P101					
	เปอร์เซ็นต์	ระดับการ	% cv	เปอร์เซ็นต์	ระดับการเกิด	% cv
	ยับยั้งการ	เกิดกิจกรรม		ยับยั้งการสร้าง	กิจกรรมของ	
	เจริญเติบโต	ของ	sporangia	จุลินทรีย์ ^{2/}		
(PI) ^{1/}	จุลินทรีย์ ^{2/}		(PI) ^{1/}			
<i>T. harzianum</i>	70.15	3	4.29	79.47	4	33.91
<i>T. hamatum</i>	66.48	3	4.95	61.45	3	37.11
<i>Ch. globosum</i>	40.06	1	3.68	56.29	2	30.28
<i>Ch. cupreum</i>	42.22	1	3.49	57.16	2	24.91

^{1/} Percent inhibition (PI) = $(R1 - R2) / R1 \times 100$; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณการสร้าง sporangia ของ *P. parasitica* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือปริมาณการสร้าง sporangia ของ *P. parasitica* ใน bi-culture

^{2/} ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 = Very high antagonistic activity (> 75 PIRG), 3 = High antagonistic activity (61-75 PIRG), 2 = Moderate antagonistic activity (51-60 PIRG), 1 = Low antagonistic activity (< 50 PIRG)

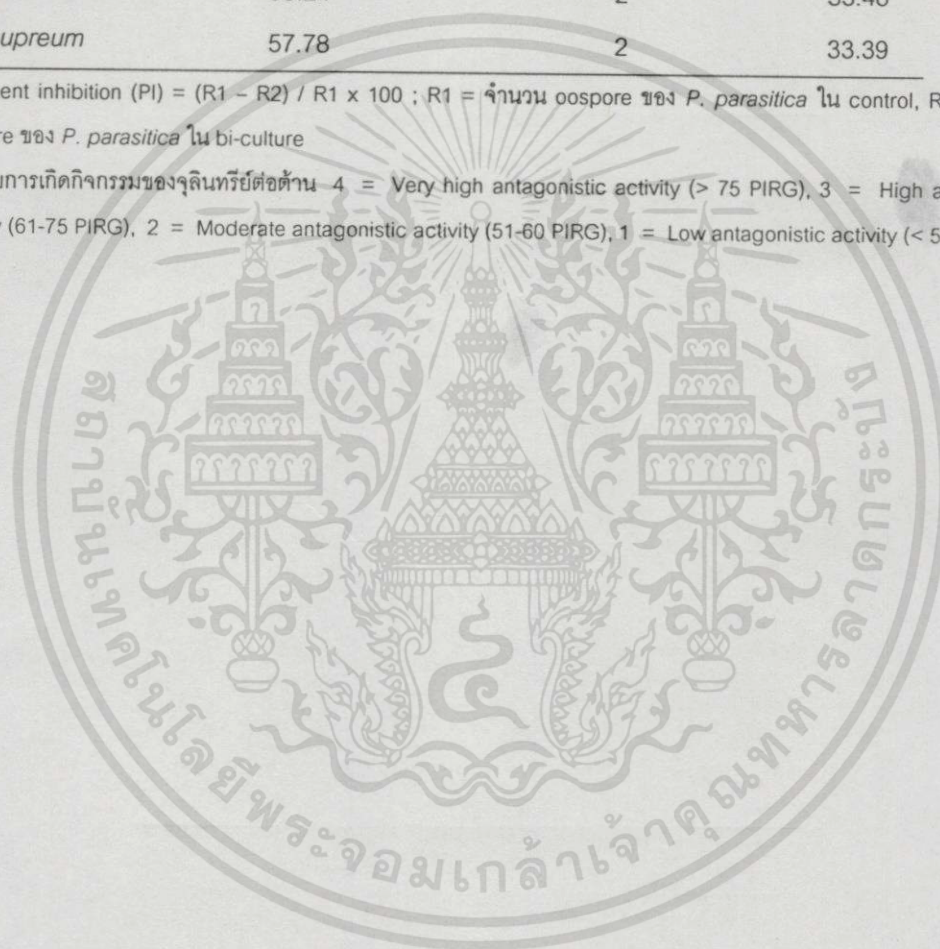
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้าง oospore ของเชื้อ
Phytophthora parasitica P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7

จุลินทรีย์ต่อต้าน	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>P. parasitica</i> P101		
	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง oospore(PI) ^{1'}	ระดับการเกิดกิจกรรมของ จุลินทรีย์ ^{2'}	% cv
<i>T. harzianum</i>	55.23	2	30.91
<i>T. hamatum</i>	48.37	1	30.55
<i>Ch. globosum</i>	53.24	2	33.46
<i>Ch. cupreum</i>	57.78	2	33.39

^{1'} Percent inhibition (PI) = $(R1 - R2) / R1 \times 100$; R1 = จำนวน oospore ของ *P. parasitica* ใน control, R2 = จำนวน oospore ของ *P. parasitica* ใน bi-culture

^{2'} ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 = Very high antagonistic activity (> 75 PIRG), 3 = High antagonistic activity (61-75 PIRG), 2 = Moderate antagonistic activity (51-60 PIRG), 1 = Low antagonistic activity (< 50 PIRG)





ภาพที่ 4.57 แสดงอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ก. เชื้อ *Trichoderma harzianum* ที่อายุ 7 วัน

ข. เชื้อ *Trichoderma hamatum* ที่อายุ 7 วัน

ค. เชื้อ *Chaetomium globosum* ที่อายุ 16 วัน

ง. เชื้อ *Chaetomium cupreum* ที่อายุ 16 วัน

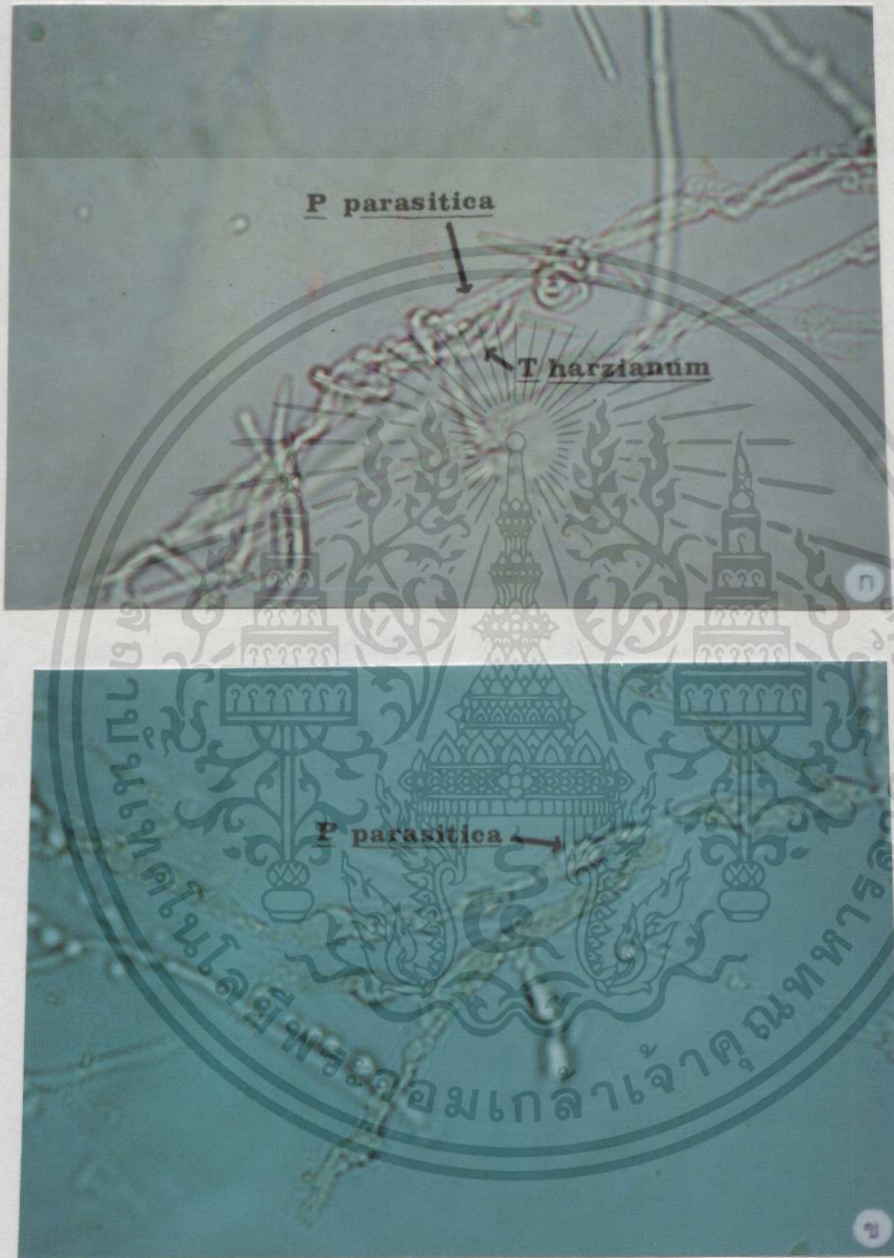
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.58 แสดงอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

- ก. เชื้อ *Trichoderma harzianum* ที่อายุ 7 วัน
- ข. เชื้อ *Trichoderma hamatum* ที่อายุ 7 วัน
- ค. เชื้อ *Chaetomium globosum* ที่อายุ 16 วัน
- ง. เชื้อ *Chaetomium cupreum* ที่อายุ 16 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.59 แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 กับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

- ก. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 พันรัดเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

ข. ลักษณะเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101 ที่ถูกทำลาย

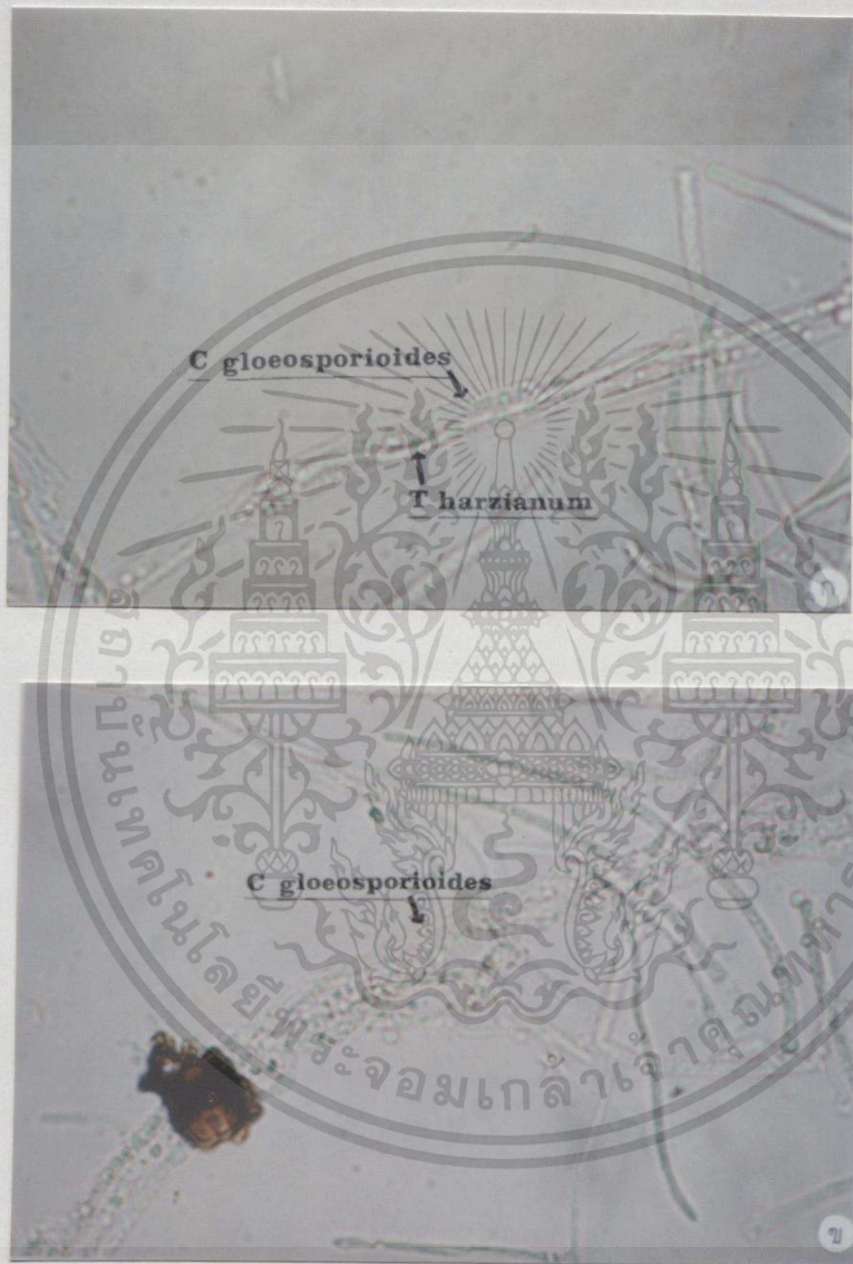
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเท่านั้น เมื่อเผยแพร่ให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.60 แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02 กับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

ก. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 พันรัดเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

เอกสารนี้เป็นเอกสารลักษณะเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101 ที่ถูกทำลายไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



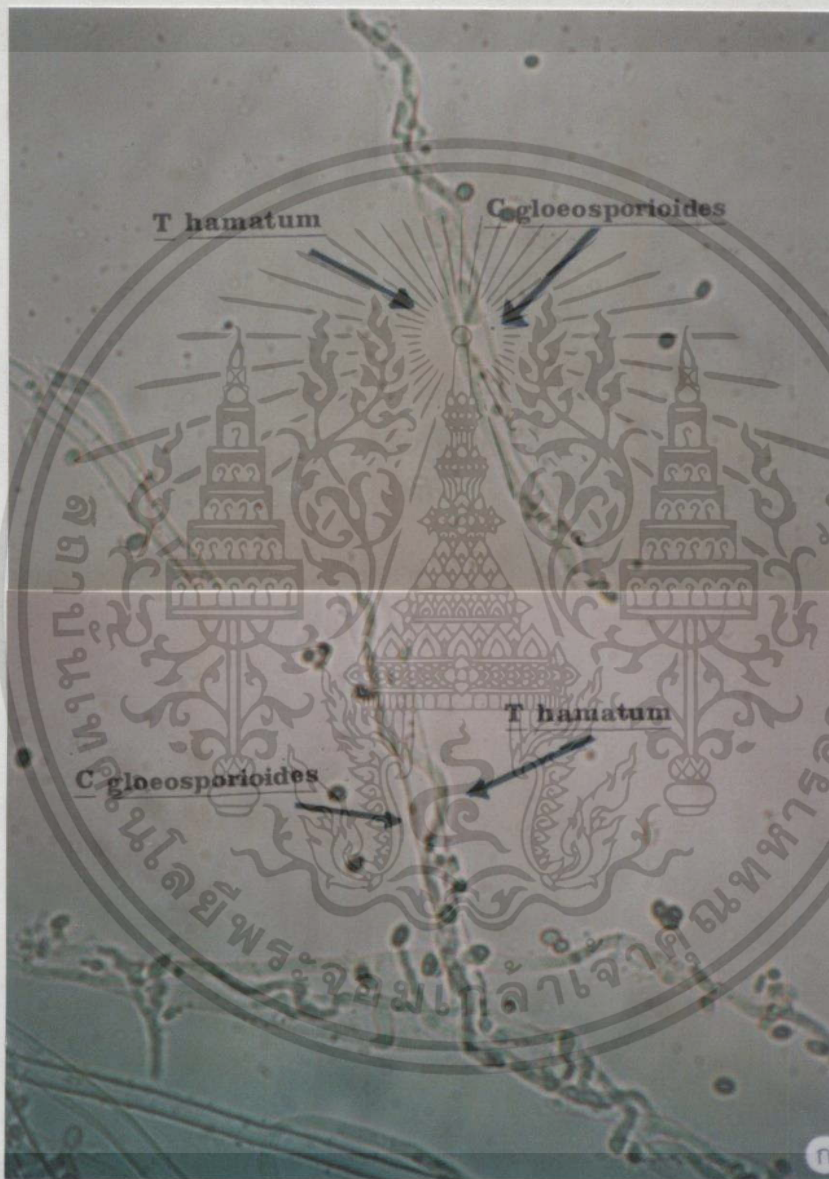
ภาพที่ 4.61 แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 กับเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides CFLS012

ก. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 พันรัดเส้นใยเชื้อรา

C. gloeosporioides

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่กองวิจัยและพัฒนาเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไปลงอากรพิมพ์ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ข. ลักษณะเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* CFLS012 ที่ถูกทำลาย
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.62 แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 กับเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides CFLS012

ก. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 พันรัดเส้นใยเชื้อรา

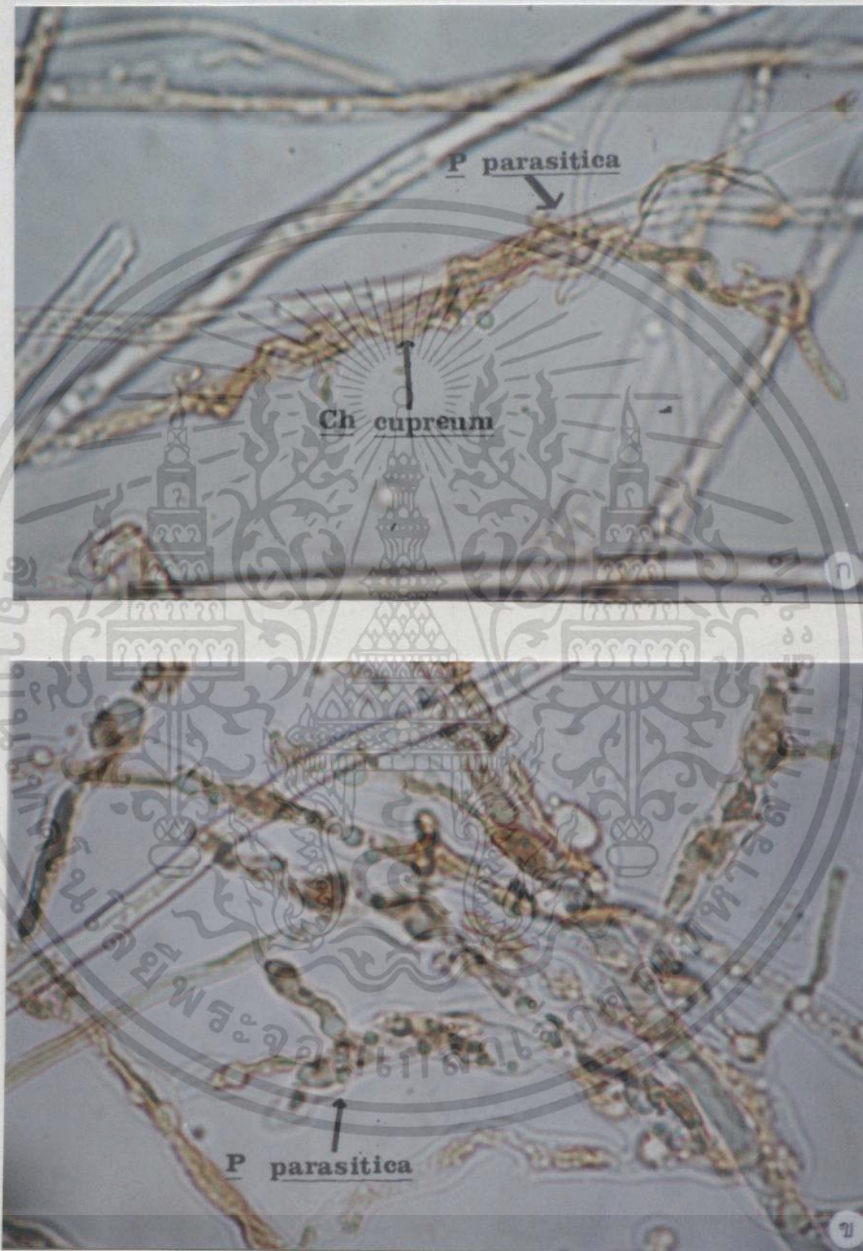
C. gloeosporioides

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.63 แสดงปฏิกริยาของเชื้อรา *Chaetomium globosum* CG กับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

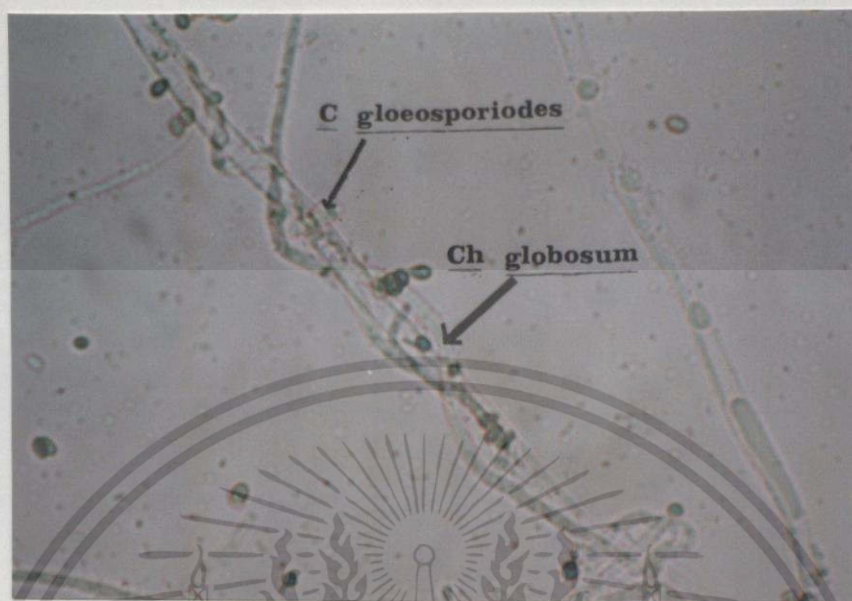
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับราชการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.64 แสดงปฏิกริยาระหว่างเชื้อ *Chaetomium cupreum* CC กับเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101

- ก. เส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC พันรัดเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* P101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่งานลักษณะเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* P101 ที่ถูกทำลายนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.65 แสดงปฏิกริยาของเชื้อ *Chaetomium globosum* CG กับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012



ภาพที่ 4.66 แสดงปฏิกริยาของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC กับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน

จากการทดลองพบว่าสารสกัด *T. harzianum* สกัดโดยใช้ EtoAc ที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด โดยการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเท่ากับ 14.54, 17.06, 18.05 และ 15.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.20) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 4.40, 4.18, 4.13 และ 4.27 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.67) สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ดีที่สุดเท่ากับ 70.14, 69.43 และ 82.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 49.68 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่า การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา กล่าวคือสามารถสร้างสปอร์ได้ 4.20×10^8 , 4.30×10^8 และ 2.50×10^8 spore/ml. ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด ซึ่งสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 14.07×10^8 spore/ml. (ตารางที่ 4.21)

ตารางที่ 4.20 อิทธิพลของสารสกัดจากจุลินทรีย์ *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^8$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	4.40 b	7.08 b	14.54	49.68
50	4.18 b	4.20 c	17.06	70.14
100	4.13 b	4.30 c	18.05	69.43
500	4.27 b	2.50 c	15.27	82.23

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากจุลินทรีย์ *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) ในทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด (ตารางที่ 4.21) แต่จากการทดลอง พบว่าสารสกัด *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ดีที่สุดเท่ากับ 87.3 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 1×10^5 sporangia/ml. รองลงมาคือสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100, 10 และ 50 ppm ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้เฉลี่ยเท่ากับ 63.45, 50.76 และ 34.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 2.88×10^5 , 3.88×10^5 และ 5.13×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ และสารสกัด *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งปริมาณการสร้าง oospore ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 61.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 0.91×10^6 oospore/ml. รองลงมาคือสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 10 ppm ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้าง oospore ของเชื้อเฉลี่ย 52.71, 43.93 และ 32.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้าง oospore ของเชื้อเฉลี่ย 1.13×10^6 , 1.34×10^6 และ 1.61×10^6 oospore/ml. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.21 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia, oospore ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	5.50 a	3.88 bc	1.51 b	0.00	50.76	32.63
50	5.50 a	5.13 ab	1.34 bc	0.00	34.89	43.93
100	5.18 a	2.88 bc	1.13 bc	5.81	63.45	52.71
500	5.25 a	1.00 c	0.91 c	4.54	87.30	61.92

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดสอบสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) พบว่าระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. glabrata* ได้ดีกว่าการควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) โดยไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการบำบัดด้วยสารสกัด MeOH นี้ อย่างไรก็ตาม การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. glabrata* ไม่สามารถสังเกตได้ทันทีหลังจากการบำบัดด้วยสารสกัด MeOH นี้ อาจเนื่องมาจากเชื้อ *C. glabrata* มีความสามารถในการปรับตัวให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวยได้เป็นอย่างดี และต้องอาศัยการสังเกตอย่างใกล้ชิดถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gloeosporioides isolate CFLS 012 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้เฉลี่ยเท่ากับ 42.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.89 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.22) รองลงมาคือระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ย 17.06, 16.46 และ 15.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.18, 4.21 และ 4.28 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.67) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อได้ดีที่สุดเท่ากับ 84 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 2.25×10^8 spore/ml. รองลงมาคือสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้างปริมาณสปอร์เฉลี่ย 64.96, 54.01 และ 36.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ย 4.93×10^8 , 6.47×10^8 และ 8.98×10^8 spore/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ

สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 57.09 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.36 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.23) รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ย 20.00, 21.63 และ 18.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.31, 4.40 และ 4.49 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.68) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด จากผลการทดลองยังพบว่าสารสกัดที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ของเชื้อได้ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกระดับความเข้มข้น กล่าวคือที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 63.45, 58.75, 58.75 และ 68.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณการสร้าง sporangia เฉลี่ย 2.88×10^5 , 3.25×10^5 , 3.25×10^5 และ 2.50×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด จากการทดลองพบว่าสารสกัด *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm มีการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 1.63×10^6 , 1.52×10^6 , 1.34×10^6 และ 1.14×10^6 oospore/ml. ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 31.79, 36.40, 43.93 และ 52.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.22 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	4.18 b	8.98 b	17.06	36.17
50	4.21 b	6.47 bc	16.46	54.01
100	4.28 b	4.93 c	15.07	64.96
500	2.89 c	2.25 d	42.65	84.00

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

ตารางที่ 4.23 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	4.40 b	2.88 b	1.63 b	20.00	63.45	31.79
50	4.31 b	3.25 b	1.52 b	21.63	58.75	36.40
100	4.49 b	3.25 b	1.34 b	18.36	58.75	43.93
500	2.36 c	2.50 b	1.14 b	57.09	68.27	52.30

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดสอบสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ppm ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัด ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100, 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 12.89 และ 11.70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.24) จากการทดลองพบว่าที่ระดับ

ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 85.07 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณการสร้างสปอร์ 2.10×10^8 spore/ml. รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 75.62, 68.86 และ 63.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อเฉลี่ย 3.43×10^8 , 4.38×10^8 และ 5.20×10^8 spore/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด

สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองโดยไม่ใช้สารสกัด (ตารางที่ 4.25, ภาพที่ 4.68) อย่างไรก็ตามสารสกัด *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองโดยไม่ใช้สารสกัด กล่าวคือสามารถยับยั้ง sporangia ได้เฉลี่ยเท่ากับ 74.61, 74.61 และ 90.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 2×10^5 , 2×10^5 และ 0.75×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 12.69 เปอร์เซ็นต์ มีการสร้าง sporangia เฉลี่ย และ 6.88×10^5 sporangia/ml. นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด กล่าวคือที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 100 และ 500 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 45.18, 47.28, 54.39 และ 68.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 1.31×10^6 , 1.26×10^6 , 1.09×10^6 , และ 0.75×10^6 oospore/ml. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.24 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	4.98 a	5.20 b	1.19	63.04
50	4.88 a	4.38 bc	3.17	68.86
100	4.39 b	3.43 bc	12.89	75.62
500	4.45 c	2.10 c	11.70	85.07

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test..

ตารางที่ 4.25 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^5$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	5.50 a	6.88 a	1.31 b	0.00	12.69	45.18
50	5.50 a	2.00 b	1.26 b	0.00	74.61	47.28
100	5.28 a	2.00 b	1.09 b	4.00	74.61	54.39
500	4.85 a	0.75 b	0.75 b	11.81	90.48	68.61

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้ดีที่สุด 29.36 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้เฉลี่ยเท่ากับ 17.06, 7.53 และ 14.68 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.18, 4.66 และ 4.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซนติเมตร ตามลำดับ(ตารางที่ 4.26, ภาพที่ 4.67) สำหรับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 65.88 และ 79.53 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 4.88×10^8 , 2.88×10^8 spore/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 37.66 และ 44.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 8.77×10^8 และ 7.82×10^8 spore/ml. ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองโดยไม่ใช้สารสกัด ซึ่งมีการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 14.07×10^8 spore/ml.

สารสกัดจากจุลินทรีย์ *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 พบว่าการใช้สารสกัดในทุกความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้เท่ากับ 18.36, 16.90, 11.81 และ 19.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 4.49, 4.57, 4.85 และ 4.45 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.27, ภาพที่ 4.68) จากการทดลองพบว่าสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ดีทุกระดับความเข้มข้นที่ทดลอง แต่มีแนวโน้มว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้สูงที่สุดถึง 80.96 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในการยับยั้งการสร้าง sporangia จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ 49.23, 76.14, 72.96 และ 80.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณการสร้าง sporangia ของเชื้อเฉลี่ย 4.00×10^5 , 1.88×10^5 , 2.13×10^5 และ 1.5×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ ส่วนผลของสารสกัดที่มีต่อการยับยั้งการสร้าง oospore ของเชื้อ *P. parasitica* P101 พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการยับยั้งการสร้าง oospore ซึ่งสามารถยับยั้งได้เท่ากับ 37.23, 66.10 และ 71.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 1.50×10^6 , 0.81×10^6 และ 0.68×10^6 oospore/ml. รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้ 10.87 เปอร์เซ็นต์ และมีการสร้าง oospore ได้ 2.13×10^6 oospore/ml.

ตารางที่ 4.26 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum*

gloeosporioides CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	4.18 b	8.77 b	17.06	37.66
50	4.66 ab	7.82 b	7.53	44.42
100	4.30 b	4.80 c	14.68	65.88
500	3.56 c	2.88 c	29.36	79.53

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test..

ตารางที่ 4.27 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Trichoderma hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm.)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^5$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	4.49 b	4.00 b	2.13 a	18.36	49.23	10.87
50	4.57 ab	1.88 b	1.50 b	16.90	76.14	37.23
100	4.85 ab	2.13 b	0.81 c	11.81	72.96	66.10
500	4.45 b	1.50 b	0.68 c	19.09	80.96	71.54

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 33.53 และ 20.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 3.35 และ 4.01 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.28, ภาพที่ 4.67) จากการทดลองใช้สารสกัด *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ซึ่งยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 79.38 เปอร์เซ็นต์ มีการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 2.90×10^8 spore/ml. รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เฉลี่ย 65.31, 50.24 และ 43.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีการสร้างสปอร์เฉลี่ย 4.88×10^8 , 7×10^8 และ 7.88×10^8 spore/ml. ตามลำดับ

สำหรับการใช้สารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 พบว่าการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 14.54 และ 57.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ppm ซึ่งไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เช่นเดียวกับการทดลองเปรียบเทียบที่ไม่ใช้สารสกัด (ตารางที่ 4.29, ภาพที่ 4.68) อย่างไรก็ตามสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ที่ทุกระดับความเข้มข้น กล่าวคือที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้เท่ากับ 63.45, 38.07, 55.58 และ 77.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีการสร้าง sporangia ได้เท่ากับ 2.88×10^5 , 4.88×10^5 , 3.50×10^5 และ 1.75×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารสกัด *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 49.79, 52.30 และ 66.94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 1.20×10^6 , 1.14×10^6 และ 0.79×10^6 oospore/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด

ตารางที่ 4.28 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Chaetomium globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	3.88 b	7.88 b	23.01	43.99
50	4.74 a	7.00 bc	5.95	50.24
100	3.35 b	4.88 cd	33.53	65.31
500	4.01 b	2.90 d	20.43	79.38

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อควบคุม control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อควบคุม Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อควบคุม control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

ตารางที่ 4.29 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Chaetomium globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm.)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangia ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	5.50 a	2.88 b	2.01 a	0.00	63.45	15.89
50	5.50 a	4.88 ab	1.20 b	0.00	38.07	49.79
100	4.70 b	3.50 b	1.14 b	14.54	55.58	52.30
500	2.35 c	1.75 b	0.79 b	57.27	77.79	66.94

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อควบคุม control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดลองใช้สารสกัดจาก *Chaetomium cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) พบว่าสารสกัดที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบที่ไม่ใช้สารสกัด และพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เฉลี่ยเท่ากับ 76.97, 83.15, 85.28 และ 90.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.30,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพ 4.67) ซึ่งสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้เฉลี่ยเท่ากับ 3.24×10^8 , 2.37×10^8 , 2.07×10^8 และ 1.40×10^8 spore/ml. ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่ทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด แต่มีแนวโน้มว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีที่สุดเท่ากับ 48.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 2.84 เซนติเมตร ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบมีการยับยั้งการเจริญ 5.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.31, ภาพที่ 4.68) สารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้เท่ากับ 55.58, 66.62 และ 79.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 3.50×10^5 , 2.63×10^5 และ 1.63×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้เฉลี่ย 25.38 เปอร์เซ็นต์ และมีการสร้าง sporangia เฉลี่ย 5.88×10^5 sporangia/ml. นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้ดีที่สุดเท่ากับ 66.10, 79.91 และ 87.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 0.81×10^6 , 0.48×10^6 และ 0.29×10^6 oospore/ml. รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้เฉลี่ย 33.47 เปอร์เซ็นต์ และมีการสร้าง oospore เฉลี่ย 1.59×10^6 oospore/ml. ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด

ตารางที่ 4.30 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Chaetomium cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^8$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ^{1/}	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ^{1/}
0	5.04 a ^{2/}	14.07 a	0.00	0.00
10	3.75 c	3.24 b	25.59	76.97
50	4.39 b	2.37 b	12.89	83.15
100	4.34 b	2.07 b	13.88	85.28
500	3.92 c	1.40 b	22.22	90.04

^{1/} % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = $\frac{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate} - \text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน Treated plate}}{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate}} \times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

ตารางที่ 4.31 อิทธิพลของสารสกัดจาก *Chaetomium cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia และ oospore ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium ($\times 10^5$)	ปริมาณการสร้าง oospore ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	3.68 b	5.88 a	1.59 b	33.09	25.38	33.47
50	5.50 a	3.50 b	0.81 c	0.00	55.58	66.10
100	3.44 bc	2.63 b	0.48 c	37.45	66.62	79.91
500	2.84 c	1.63 b	0.29 c	48.36	79.31	87.86

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อราบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อราบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อราบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

จากการทดสอบสารสกัด Chaetoglobosin C ที่ผลิตจาก *Ch. globosum* พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate CFLS 012 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้เฉลี่ยเท่ากับ 92.06 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 0.40 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.32) รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีได้เท่ากับ 23.21 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.87 เซนติเมตร (ภาพที่ 4.67) ส่วนสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด และจากการทดลองพบว่าสารสกัดที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งได้ 97.08, 98.08 99.28 และ 99.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่มีปริมาณการสร้างสปอร์เฉลี่ยเท่ากับ 0.41×10^8 , 0.27×10^8 , 0.10×10^8 และ 0.07×10^8 spore/ml. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารสกัด ซึ่งมีการสร้างสปอร์เท่ากับ 14.07×10^8 spore/ml.

สารสกัด Chaetoglobosin C ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* P101 ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเท่ากับ 92.00 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.44 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.33) รองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

79.81 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 1.11 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ใช้สารสกัด (ภาพที่ 4.68) อย่างไรก็ตาม สารสกัด Chaetoglobosin C ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ได้ดีเท่ากับ 46.06, 66.62, 27.03 และ 76.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีการสร้าง sporangia เฉลี่ยเท่ากับ 4.25×10^5 , 2.63×10^5 , 5.75×10^5 และ 1.88×10^5 sporangia/ml. ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัด Chaetoglobosin C ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้ดีที่สุดเท่ากับ 71.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการสร้าง oospore เฉลี่ยเท่ากับ 0.69×10^6 oospore/ml. รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 10 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ได้เฉลี่ย 39.33, 29.28 และ 26.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีการสร้าง oospore เฉลี่ย 1.45×10^6 , 1.69×10^6 และ 1.75×10^6 oospore/ml. ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ใช้สารสกัด

ตารางที่ 4.32 อิทธิพลของสารสกัด Chaetoglobosin C สารปฏิชีวนะที่สกัดจาก *Chaetomium globosum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($\times 10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้างสปอร์ ¹
0	5.04 a ²	14.07 a	0.00	0.00
10	5.10 a	0.41 b	0.00	97.08
50	4.93 a	0.27 b	2.18	98.08
100	3.87 b	0.10 b	23.21	99.28
500	0.40 c	0.07 b	92.06	99.50

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อบน control plate $\times 100$

² ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.33 อิทธิพลของสารสกัด Chaetoglobosin C สารปฏิชีวนะที่สกัดจาก *Chaetomium globosum* ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้าง sporangia และ oospore ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้าง sporangium (x 10 ⁵)	ปริมาณการสร้าง oospore (x 10 ⁶)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต ¹	% ยับยั้งการสร้าง sporangia ¹	% ยับยั้งการสร้าง oospore ¹
0	5.50 a ²	7.88 a	2.39 a	0.00	0.00	0.00
10	2.00 b	4.25 ab	1.75 b	63.63	46.06	26.77
50	2.24 b	2.63 b	1.69 b	59.27	66.62	29.28
100	1.11 c	5.75 ab	1.45 b	79.81	27.03	39.33
500	0.44 d	1.88 b	0.69 c	92.00	76.14	71.12

¹ %ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อ = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน Treated plate / เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือการสร้าง sporangia หรือการสร้าง oospore ของเชื้อบน control plate x 100

²ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

จากการทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่า สารสกัดทุกชนิดที่ทดสอบสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานได้ดี โดยการใช้สารบริสุทธิ์(pure compound) ที่สกัดจาก *Ch. globosum* มีค่าการยับยั้งเชื้อรา 50 เปอร์เซ็นต์(ED₅₀) เท่ากับ 0.09 ppm รองลงมาได้แก่สารสกัด *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane), สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH), สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc), สารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane), สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) และสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) มีค่า ED₅₀ เท่ากับ 0.11, 2.37, 8.01, 20.77, 28.35 และ 34.40 ตามลำดับ(ตารางที่ 4.34)

ตารางที่ 4.34 ค่า ED₅₀ ของสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS 012

สารสกัด	ค่า ED ₅₀ (ppm)	
	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี	การสร้างสปอร์
<i>T. harzianum</i> (EtoAc)	-	8.01
<i>T. harzianum</i> (MeOH)	4819	2.37
<i>T. harzianum</i> (Hexane)	1409	28.35
<i>T. hamatum</i> (MeOH)	-	34.40
<i>Ch. globosum</i> (Hexane)	-	20.77
<i>Ch. cupreum</i> (Hexane)	-	0.11
Chaetoglobocin c	178	0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

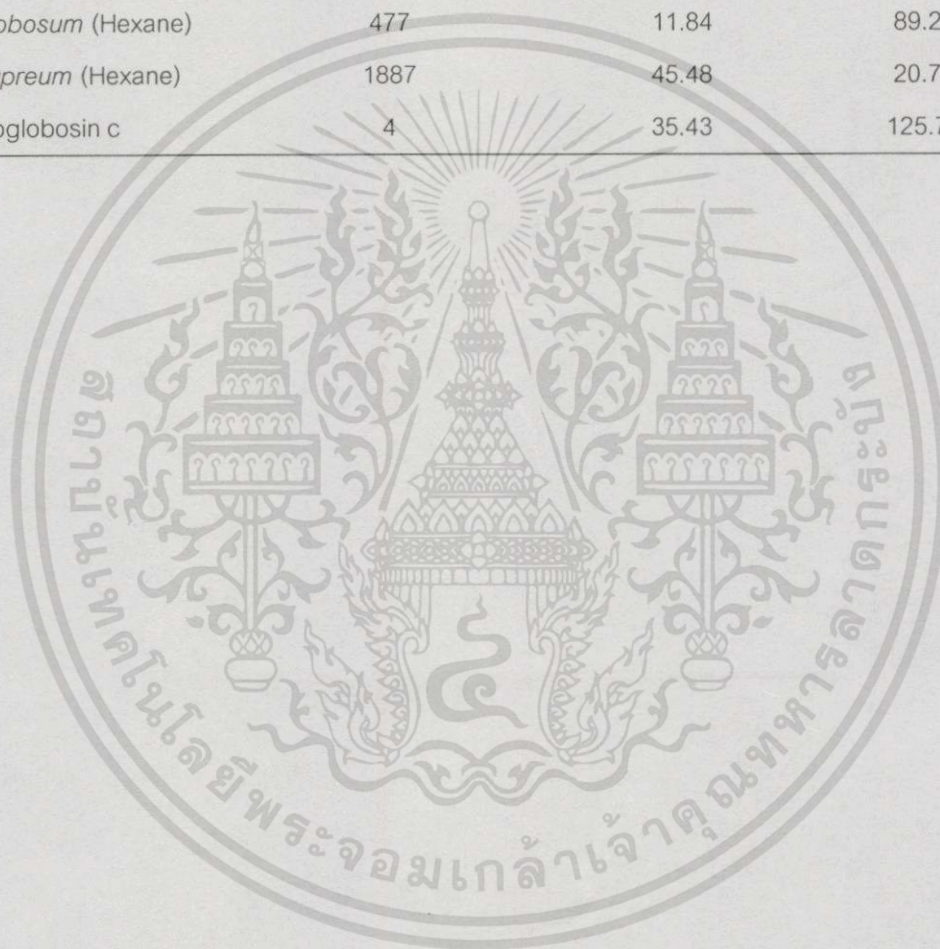
จากการทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *P. parasitica* P101 สาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน พบว่าสารบริสุทธิ์ Chaetoglobosin C ที่สกัดจาก *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญของโคโคนีได้ดีที่สุดมีค่า ED_{50} เท่ากับ 4 ppm รองลงมาคือสารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 477 ppm ส่วนสารสกัดอื่นๆ มีค่า ED_{50} สูงกว่า 1000 ppm ได้แก่ สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) และ *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) และสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของโคโคนีเชื้อราได้

อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าการใช้สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ของเชื้อรา *P. parasitica* P101 ได้ดีที่สุด มีค่า ED_{50} เท่ากับ 0.01 ppm รองลงมาได้แก่ สารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 6.24 ppm สารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 11.84 ppm สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 21.20 ppm สารบริสุทธิ์ Chaetoglobosin C มีค่า ED_{50} เท่ากับ 35.43 ppm สารสกัด *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 36.71 ppm และสารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 45.48 ppm

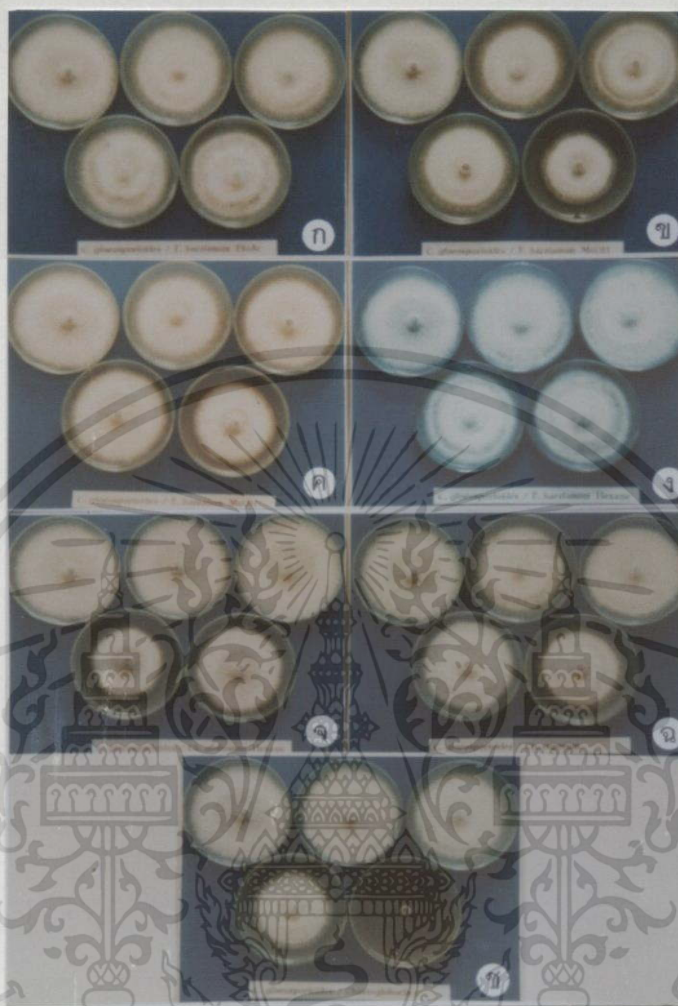
นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง สามารถยับยั้งการสร้าง oospore ของเชื้อรา *P. parasitica* P101 ได้ดีโดยสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 7.80 ppm สารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 20.74 ppm *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 46.51 ppm สารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 61.56 ppm สารสกัดจาก *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 89.22 ppm สารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) มีค่า ED_{50} เท่ากับ 113 ppm และสารบริสุทธิ์ Chaetoglobosin C มีค่า ED_{50} เท่ากับ 125.71 ppm (ตารางที่ 4.35)

ตารางที่ 4.35 ค่า ED₅₀ ของสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อรา
Phytophthora parasitica P 101

สารสกัด	ค่า ED ₅₀ (ppm)		
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ	การสร้าง sporangia	การสร้าง oospore
<i>T. harzianum</i> (EtoAc)	10787	21.20	113.04
<i>T. harzianum</i> (MeOH)	4007	36.71	7.80
<i>T. harzianum</i> (Hexane)	1396	0.01	46.51
<i>T. hamatum</i> (MeOH)	-	6.24	61.56
<i>Ch. globosum</i> (Hexane)	477	11.84	89.22
<i>Ch. cupreum</i> (Hexane)	1887	45.48	20.74
Chaetoglobosin c	4	35.43	125.71



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.67 การทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz.&Sacc isolate CFLS012 ที่อายุ 7 วัน

- ก. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc)
- ข. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH)
- ค. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH)
- ง. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane)
- จ. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Chaetomium globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane)
- ฉ. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane)
- ช. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัด Chaetoglobosin C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.68 การทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101 ที่อายุ 7 วัน

ก. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Trichoderma harzianum*
(สกัดโดยใช้ EtOAc)

ข. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH)

ค. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH)

ง. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane)

จ. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Chaetomium globosum*
(สกัดโดยใช้ Hexane)

ฉ. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัดจาก *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane)

ช. บนอาหาร PDA ผสมสารสกัด Chaetoglobosin C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

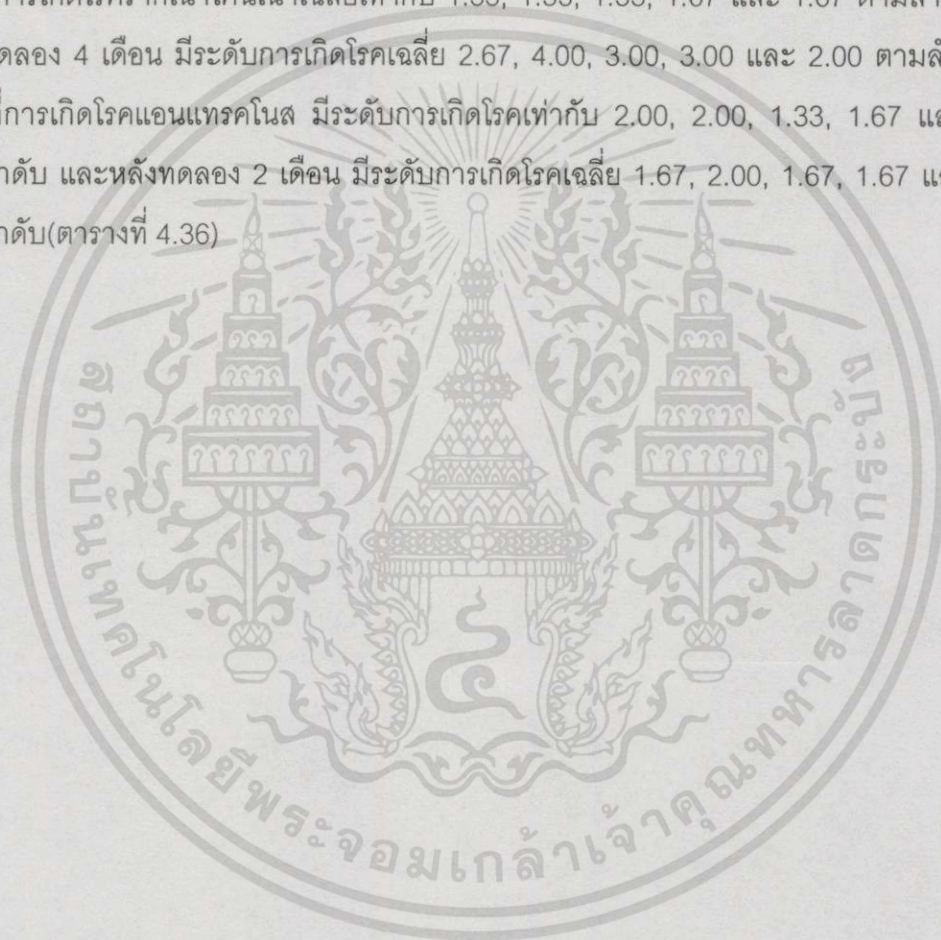
4.5 การประเมินประสิทธิภาพการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในสภาพเรือนทดลองและแปลงทดลอง

4.5.1 การทดสอบชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคร่วม(Disease Complex) ของส้มเขียวหวานในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl และ Carbendazim ในการป้องกันการเกิดโรคร่วม(disease complex) โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* P101 และโรคแอนแทรกคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* CFLS012 ของส้มเขียวหวานที่มีอายุ 3 เดือน ซึ่งปลูกในดินที่มีสภาพ pH ต่างๆ กันคือ 3, 4, 5, 6 และ 7 จากการทดลองพบว่าหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคทั้งสองชนิดลงบนต้นเดียวกัน โดยปลูกเชื้อรา *P. parasitica* P101 ที่โคนต้น และเชื้อรา *C. gloeosporioides* CFLS012 บนใบ พบว่าวิธีการที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทั้งสองร่วมกัน และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกคโนสเฉลี่ยต่ำกว่า การทดลองเปรียบเทียบ ซึ่งไม่ใช้วิธีการใดๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และพบว่าความเป็นกรดของดินมีปฏิกริยาสัมพันธ์กับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กล่าวคือหลังจากการทดลอง 1 เดือน การใช้ *Trichoderma* ในดินที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.33, 1.00, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ และหลังการทดลอง 4 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.00, 1.00, 3.00, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับการเกิดโรคแอนแทรกคโนส มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 1.67, 1.67, 2.00, 2.00 และ 1.33 ตามลำดับ และหลังการทดลอง 2 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.33, 1.33, 1.67, 1.33 และ 1.00 ตามลำดับ การใช้ *Chaetomium* ในดินที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.33, 1.33, 1.33, 1.33 และ 1.67 ตามลำดับ และหลังการทดลอง 4 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.00, 1.67, 2.00, 1.67 และ 1.67 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับการเกิดโรคแอนแทรกคโนส มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 1.67, 1.33, 1.33 และ 1.67 ตามลำดับ และหลังการทดลอง 2 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.67, 1.67, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในดินที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.00, 1.67, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ หลังจากทดลอง 4 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 1.00, 1.33, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับการเกิดโรคแอนแทรกคโนสมีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 2.00, 1.33, 2.00 และ 1.67 ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่วารณใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ และหลังจากทดลอง 2 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.00, 1.33, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ในดินที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.00, 1.00, 1.33, 1.33 และ 1.67 ตามลำดับ และหลังจากการทดลอง 4 เดือน มีระดับการเกิดโรค 1.00, 1.33, 1.00, 1.67 และ 1.00 ตามลำดับ ในขณะที่ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสมีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 1.00, 1.33, 2.00 และ 1.67 ตามลำดับ และหลังจากการทดลอง 2 เดือน มีระดับการเกิดโรค 1.00, 1.33, 1.00, 1.67 และ 1.33 ตามลำดับ ขณะที่การทดลองเปรียบเทียบที่ปลูกต้นส้มเขียวหวานใน pH 3, 4, 5, 6 และ มีระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.33, 1.33, 1.33, 1.67 และ 1.67 ตามลำดับ และหลังทดลอง 4 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 2.67, 4.00, 3.00, 3.00 และ 2.00 ตามลำดับ ในขณะที่เกิดโรคแอนแทรคโนส มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.00, 2.00, 1.33, 1.67 และ 2.00 ตามลำดับ และหลังทดลอง 2 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.67, 2.00, 1.67, 1.67 และ 1.67 ตามลำดับ(ตารางที่ 4.36)



ตารางที่ 4.36 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานที่ปลูกเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101 และ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในเรือนทดลอง

วิธีการ	pH ดิน	รากเน่าโคนเน่า ¹		แอนแทรคโนส ²	
		1 เดือน	4 เดือน	1 เดือน	2 เดือน
<i>Trichoderma</i>	3	1.33 a ³	1.00 c	1.67 a	1.33 a
	4	1.00 a	1.00 c	1.33 a	1.33 a
	5	1.33 a	3.00 ab	1.67 a	1.67 a
	6	1.33 a	1.33 bc	1.33 a	1.33 a
	7	1.33 a	1.33 bc	1.33 a	1.00 a
<i>Chaetomium</i>	3	1.33 a	1.00 c	1.67 a	1.67 a
	4	1.33 a	1.67 bc	1.67 a	1.67 a
	5	1.33 a	2.00 bc	1.33 a	1.33 a
	6	1.33 a	1.67 bc	1.33 a	1.33 a
	7	1.67 a	1.67 bc	1.67 a	1.33 a
<i>Trichoderma</i> / <i>Chaetomium</i>	3	1.00 a	1.00 c	1.33 a	1.00 a
	4	1.67 a	1.33 bc	1.67 a	1.33 a
	5	1.33 a	1.33 bc	1.33 a	1.33 a
	6	1.33 a	1.33 bc	1.33 a	1.33 a
	7	1.33 a	1.33 bc	1.33 a	1.33 a
สารเคมี Metalaxyl และ Carbendazim	3	1.00 a	1.00 c	1.33 a	1.00 a
	4	1.00 a	1.33 bc	1.33 a	1.33 a
	5	1.33 a	1.00 c	1.33 a	1.00 a
	6	1.33 a	1.67 bc	1.67 a	1.67 a
	7	1.67 a	1.00 c	1.67 a	1.33 a
control	3	1.33 a	2.67 abc	2.00 a	1.67 a
	4	1.33 a	4.00 a	1.67 a	2.00 a
	5	1.33 a	3.00 ab	2.00 a	1.67 a
	6	1.67 a	3.00 ab	2.00 a	1.67 a
	7	1.67 a	2.00 bc	2.33 a	1.67 a

¹ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์

²ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม

³ ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองในสภาพเรือนทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีระดับการเกิดโรครากเน่าดำในสภาพดินที่มีค่า pH 3, 5 และ 7 ซึ่งมีระดับการเกิดโรคต่ำเท่าเทียมกับการใช้ *Trichoderma* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 3 และ 4 การใช้ *Chaetomium* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 3 การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 3 ส่วนการเกิดโรคแอนแทรคโนสจะเห็นได้ว่า หลังการทดลอง 1 เดือน การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และการใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim สามารถควบคุมให้มีระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสต่ำ เท่าเทียมกัน เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ ซึ่งพบว่า การใช้ *Trichoderma* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 3, 4 และ 7 การใช้ *Chaetomium* ในสภาพดินที่มีค่า pH 4, 5, 6 และ 7 การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 5 และ 7 การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 5 และ 7 (ตารางที่ 4.36)

จากการประเมินระดับการเกิดโรคร่วม(Disease complex) ในสภาพเรือนทดลองจะเห็นได้ว่า หลังจากปลูกเชื้อทั้งสองชนิดร่วมในต้นส้มเขียวหวานต้นเดียวกัน ปรากฏว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีระดับการเกิดโรคร่วมต่ำกว่า การทดลองเปรียบเทียบ ซึ่งไม่ใช้วิธีการใด โดยการใช้ *Trichoderma* ในสภาพดินปลูกที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ย 1.16, 1.16, 2.33, 1.33 และ 1.16 ตามลำดับ การใช้ *Chaetomium* ในสภาพดินปลูกที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ย 1.33, 1.67, 1.66, 1.50 และ 1.50 ตามลำดับ การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ย 1.00, 1.33, 1.33, 1.33 และ 1.33 ตามลำดับ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ย 1.00, 1.33, 1.00, 1.67 และ 1.16 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ ต้นส้มเขียวหวานที่ปลูกในดินที่ค่า pH 3, 4, 5, 6 และ 7 มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 2.17, 3.00, 2.33, 2.33 และ 1.83 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.37)

จากการทดลอง พบว่าการใช้การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร่วมลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับ การไม่ใช้วิธีการใดๆ โดยพบว่า การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ที่ปลูกในดินที่มีค่า pH 3 มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคสูงสุดเท่ากับ 33.33 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือการใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ในสภาพแปลงปลูกที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า pH เท่ากับ 7, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 4 การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 5, การใช้ *Trichoderma* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 3 การใช้ *Trichoderma* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 6 การใช้ *Chaetomium* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 3 การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 6 การใช้ *Trichoderma* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 4, 7 *Trichoderma* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 7 การใช้ *Chaetomium* ในสภาพแปลงปลูกที่มีค่า pH 7 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเท่ากับ 30.53, 27.32, 24.81, 22.66, 19.87, 19.87, 12.78, 11.33 และ 10.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบไม่พบเปอร์เซ็นต์การลดลงของการเกิดโรคร่วม(ตารางที่ 4.37)

จากการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Phytophthora parasitica* หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ในสภาพดินปลูกที่มีสภาพ pH 3, 4, 5, 6 และ 7 หลังการทดลอง 4 เดือน พบว่าการใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อต่ำกว่าการทดลองเปรียบเทียบซึ่งไม่ใช้วิธีการใด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าความเป็นกรด-ด่างของดินมีความสัมพันธ์กับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าการใช้ *Trichoderma* ที่ปลูกในสภาพดินปลูกที่มี pH 7 มีเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 2.87 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้ *Trichoderma* ที่ปลูกในสภาพดินปลูกที่มี pH 6 การใช้ *Chaetomium* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 5 การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 5 และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ที่ปลูกในสภาพดินที่มี pH 5 มีเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 36.2, 33.7, 33.7 และ 33.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.38)

สำหรับปริมาณเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* และ การใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim มีปริมาณเชื้อต่ำกว่าการทดลองเปรียบเทียบซึ่งไม่ใช้วิธีการใด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าความเป็นกรด-ด่างของดินมีปฏิกริยาสัมพันธ์กับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือการใช้สารเคมี Metalaxyl ร่วมกับ Carbendazim ที่สภาพดินปลูกที่มี pH 5 และการใช้ *Trichoderma* ที่ปลูกในสภาพดินปลูกที่มี pH 5 พบปริมาณเชื้อต่ำสุดเท่ากับ 1.1×10^3 และ 1.2×10^3 cfu. รองลงมาคือการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ที่สภาพดินปลูกที่มี pH 4 การใช้ *Chaetomium* ที่สภาพดินปลูกที่มี pH 3 มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อเท่ากับ 1.5×10^3 และ 1.6×10^3 cfu. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ใช้วิธีการใด ซึ่งมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น(ตารางที่ 4.38)

ตารางที่ 4.37 ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวานที่ปลูกเชื้อรา *Phytophthora parasitica* P101 และ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในเรือนทดลอง

วิธีการ	pH ดิน	DCL ^{1/}		DR ^{2/}
		1 เดือน	4 เดือน	
<i>Trichoderma</i>	3	1.50	1.16	22.66
	4	1.33	1.16	12.78
	5	1.66	2.33	-
	6	1.66	1.33	19.87
	7	1.33	1.16	12.78
<i>Chaetomium</i>	3	1.66	1.33	19.87
	4	1.50	1.67	-
	5	1.33	1.66	-
	6	1.33	1.50	-
	7	1.67	1.50	10.17
<i>Trichoderma</i> / <i>Chaetomium</i>	3	1.50	1.00	33.33
	4	1.83	1.33	27.32
	5	1.33	1.33	-
	6	1.66	1.33	19.87
	7	1.50	1.33	11.33
สารเคมี Metalaxyl และ Carbendazim	3	1.50	1.00	33.33
	4	1.00	1.33	-
	5	1.33	1.00	24.81
	6	1.66	1.67	-
	7	1.67	1.16	30.53
control	3	1.66	2.17	-
	4	1.66	3.00	-
	5	1.33	2.33	-
	6	1.67	2.33	-
	7	1.83	1.83	-

^{1/}Disease Complex Level(DCL) = (disease index of root rot + disease index of antracnose)/ 2

^{2/}Disease Reduction(DR) = (DC of control - DC of treatment)/DC of control x 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.38 แสดงปริมาณเชื้อก่อโรค *Phytophthora parasitica* P101 และเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* CFLS012 หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* และการใช้สารเคมี เป็นเวลา 4 เดือนในสภาพเรือนทดลอง

วิธีการ	pH	ปริมาณเชื้อก่อโรค	
		% colonization <i>Phytophthora</i>	<i>Colletotrichum</i> ($\times 10^3$) cfu. ต่อดิน 1 กรัม
<i>Trichoderma</i>	3	67.50 ab ¹	2.10 abcdef
	4	48.75 bcdef	2.90 abcd
	5	47.50 bcdef	1.20 f
	6	36.25 def	2.60 abcde
	7	28.75 f	2.00 abcdef
<i>Chaetomium</i>	3	78.75 a	1.60 def
	4	55.00 bcde	2.40 abcdef
	5	33.75 def	2.80 abcde
	6	53.75 bcde	1.80 bcdef
	7	53.75 bcde	2.40 abcdef
<i>Trichoderma</i> / <i>Chaetomium</i>	3	50.00 bcdef	1.90 bcdef
	4	50.00 bcdef	1.50 ef
	5	33.75 def	2.30 abcdef
	6	38.75 cdef	1.70 cdef
	7	31.25 ef	2.10 abcdef
สารเคมี	3	62.50 abc	2.00 abcdef
	4	37.50 cef	3.10 ab
	5	33.75 def	1.10 f
	6	51.25 bcdef	2.30 abcdef
	7	48.75 bcdef	2.90 abcd
control	3	56.25 abcd	2.10 abcdef
	4	55.00 bcde	3.30 a
	5	48.75 bcdef	3.30 a
	6	46.25 bcdef	2.80 abcde
	7	63.75 ab	3.00 abc

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test..

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 การประเมินประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* (PC01+PC02) ชนิดเม็ด เชื้อรา *Chaetomium* (CC+CG) ชนิดเม็ด และการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ชนิดเม็ดรวมกับการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* ชนิดเม็ด เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด (control) ในแปลงปลูกส้มเขียวหวาน อายุ 7 ปี ของเกษตรกร ไร่กาญจนศักดิ์ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก เพื่อป้องกันกำจัดการระบาดของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน โดยทำการสำรวจระดับอาการโรครากเน่าโคนเน่า และอาการโรคแอนแทรคโนส ก่อนทำการทดลองและหลังการทดลองทุก 4 เดือน สำหรับก่อนทำการทดลอง (ตารางที่ 4.1) พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.40 ในแปลงทดลองที่ใช้ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.65 ในแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.40 และในแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใดมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.30 สำหรับระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน โดยในทุกแปลงทดลอง มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.00 ในแปลงทดลองที่จะใช้ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 3.00

หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งมีระดับการเกิดโรคเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.69) และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค พบว่าแต่ละวิธีการมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 4.39) โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Chaetomium* สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 16.72 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และ แปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* สามารถลดการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 8.66 และ 3.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่แปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) ไม่ปรากฏเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค เมื่อระยะเวลาเพิ่มเป็น 8 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่ามีแนวโน้มลดลงซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งระดับการเกิดโรคในแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* *Chaetomium* และ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่แปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) ระดับการเกิดโรคเพิ่มขึ้น เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค

รากเน่าโคนเน่า ที่ระยะ 8 เดือน พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าไม่แตกต่างกัน แต่แปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคมากกว่าแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control)อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าลดลง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) ซึ่งแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์แต่ละวิธี ไม่มีความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า ในขณะที่แปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) พบระดับการเกิดโรคเพิ่มขึ้น เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าปรากฏว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง(ตารางที่ 4.40)

สำหรับระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส จากการประเมินระดับการเกิดโรค ภายหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และ *Chaetomium* ที่ระยะ 4 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 8 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรคมีแนวโน้มลดลง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) ซึ่งระดับการเกิดโรคในแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พบระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่แปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) มีระดับการเกิดโรคเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.70) ในแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ มีการเกิดโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเฉลี่ย 38.66, 40.00 และ 41.33 เปอร์เซ็นต์ หลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าระดับการเกิดโรคลดลง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) เมื่อเปรียบเทียบแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งในแปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) พบระดับการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้น และพบว่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคแอนแทรคโนสในแต่ละแปลงทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ control ไม่พบเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค(ตารางที่ 4.42, ภาพที่ 4.71-4.74) แสดงลักษณะของแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ทั้งในระยะก่อนทำการทดลอง และหลังทำการทดลองเป็นเวลา 10 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.39 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ภายหลังจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใดในสภาพแปลงทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรคหลังการทดลอง (เดือน) ^{1/}			
	ก่อนทดลอง	4	8	10
<i>Trichoderma</i>	3.40 a ^{2/}	3.10 a	2.10 b	1.80 b
<i>Chaetomium</i>	3.65 a	3.05 a	2.24 b	1.85 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	3.40 a	3.25 a	2.35 b	1.85 b
Control	3.30 a	3.40 a	3.65 a	3.90 a
C.V.(%)	5.90	5.52	12.79	15.54

^{1/} ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ต้นส้มสมบูรณ์ ใบเขียวเข้มเป็นมัน ไม่แห้งตายจากยอด ส้มแตกใบอ่อนสมบูรณ์ ระดับ 2 = ต้นส้มเริ่มโทรมลง ใบซีดลง ยอดอ่อนใบเริ่มเล็กลง ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 1-25 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 3 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ระดับ 4 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 51-75 เปอร์เซ็นต์ และระดับ 5 = ต้นส้มโทรมลง ใบซีดเล็ก ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอด หรือมีรากเน่า 76-100 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sandler et al., 1989)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากการเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

ตารางที่ 4.40 เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานในแปลงทดลอง หลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ป้อนกันกำจัดเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในสภาพแปลงทดลอง

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคหลังการทดลอง (เดือน) ^{1/}		
	4	8	10
<i>Trichoderma</i>	8.66 b ^{2/}	36.66 a	44.66 a
<i>Chaetomium</i>	16.72 a	37.03 a	47.25 a
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	3.67 bc	30.33 a	45.00 a
Control	0.00 c	0.00 b	0.00 b
C.V.(%)	78.84	20.10	27.44

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = $\frac{\text{ระดับอาการโรคก่อนทดลอง} - \text{ระดับอาการโรคหลังทดลอง}}{\text{ระดับอาการโรคก่อนทดลอง}} \times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากการเปรียบเทียบ ค่า treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.41 ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ภายหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใดในสภาพแปลงทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรคหลังการทดลอง (เดือน) ^{1/}			
	ก่อนทดลอง	4	8	10
<i>Trichoderma</i>	3.00 a ^{2/}	2.68 b	1.84 b	1.16 b
<i>Chaetomium</i>	3.00 a	2.68 b	1.80 b	1.08 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	3.00 a	2.72 ab	1.76 b	1.12 b
Control	3.00 a	2.88 a	2.92 a	3.00 a
C.V.(%)	11.79	4.76	11.44	5.74

^{1/}ระดับการเกิดโรคแอนแทรกโนส ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แบ่งการให้ระดับคะแนนการเกิดโรค (Disease Index = DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล ระดับ 2 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 1-20 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 3 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 4 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 41-60 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ระดับ 5 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 61-80 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม และระดับ 6 = พบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 81-100 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Correll et al., 1993)

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากการเปรียบเทียบ ค่า treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

ตารางที่ 4.42 เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวานหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* บำรุงกันกำจัดเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในสภาพแปลงทดลอง

ชีวผลิตภัณฑ์ที่ใช้	เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคหลังการทดลอง (เดือน) ^{1/}		
	4	8	10
<i>Trichoderma</i>	10.66 a ^{2/}	38.66 a	61.33 a
<i>Chaetomium</i>	10.66 a	40.00 a	64.00 a
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	9.33 ab	41.33 a	62.66 a
Control	4.00 b	2.67b	-
C.V.(%)	50.17	25.88	6.47

^{1/} เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = $\frac{\text{ระดับอาการโรคก่อนทดลอง} - \text{ระดับอาการโรคลงทดลอง}}{\text{ระดับอาการโรคก่อนทดลอง}} \times 100$

^{2/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากการเปรียบเทียบ ค่า treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในการป้องกันการเกิดโรคร่วม (Disease Complex) โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* และโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C.gloeosporioides* ในสภาพแปลงปลูกที่มีการระบาดของโรค หลังจากทดลองเป็นเวลา 4, 8 และ 10 เดือน ปรากฏว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคร่วมต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองเปรียบเทียบซึ่งไม่ใช้วิธีการใด โดยการให้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 2.89, 2.86 และ 2.98 ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 8 เดือน การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 1.97, 2.02 และ 2.05 และที่ระยะเวลา 10 เดือน การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีระดับการเกิดโรคร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 1.48, 1.46 และ 1.48 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.43)

และการทดลอง พบว่าการเกิดโรคร่วมลดลง โดยแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พบเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรคเพิ่มขึ้น หลังการทดลองที่ระยะเวลา 4, 8 และ 10 เดือน ในขณะที่แปลงทดลองเปรียบเทียบซึ่งไม่ใช้วิธีการใด ไม่พบเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค ที่ระยะเวลา 4 เดือน การใช้ การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พบการเกิดโรคร่วมลดลง 9.68, 13.85 และ 6.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 8 เดือน การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พบการเกิดโรคร่วมลดลง 38.43, 39.15 และ 35.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 10 เดือน การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พบการเกิดโรคร่วมลดลง 53.75, 56.02 และ 53.75 เปอร์เซ็นต์ ลำดับ (ตารางที่ 4.43)

ตารางที่ 4.43 ระดับการเกิดโรคร่วม (Disease complex) ของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora parasitica* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด ในสภาพแปลงทดลอง

วิธีการ	DCL ¹ (เดือน)				DR ² (เดือน)		
	ก่อนทดลอง	4	8	10	4	8	10
<i>Trichoderma</i>	3.20	2.89	1.97	1.48	9.68	38.43	53.75
<i>Chaetomium</i>	3.32	2.86	2.02	1.46	13.85	39.15	56.02
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	3.20	2.98	2.05	1.48	6.87	35.93	53.75
Control	3.15	3.14	3.28	3.45	-	-	-

¹ Disease Complex Level(DCL) = disease index of root rot + disease index of anthracnose/2

² Disease Reduction(DR) = (DCL of control - DC of treatment) / DC of Control x 100

จากการตรวจนับปริมาณของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน ก่อนทดลอง และหลังทดลองทุก 2 เดือน โดยทำการตรวจนับเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *P. parasitica* ที่ระดับความลึกของดิน 2 ระดับ คือระดับความลึก 15 ซม. และระดับความลึก 30 ซม. ซึ่งก่อนทำการทดลอง พบว่าเปอร์เซ็นต์ colonization ในแต่ละแปลงทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ หลังจากทำการทดลองเป็นเวลา 2, 4, 6 เดือน ที่ระดับความลึกทั้ง 2 ระดับ และ 6 เดือน ที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร พบว่าเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *P. parasitica* ในแต่ละแปลงทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่อายุ 8 และ 10 เดือน ที่ระดับความลึกทั้ง 2 ระดับ พบว่าเปอร์เซ็นต์ colonization ในแต่ละวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญ โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.44-4.45)

ตารางที่ 4.44 เปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* P101 ต่อดิน 20 กรัม ที่ระดับความลึก 15 ซม. ก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์(control) ในสภาพแปลงทดลอง ช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541

วิธีการ	Colonization หลังการทดลอง(เดือน)(%)					
	ก่อนทดลอง	2	4	6	8	10
<i>Trichoderma</i>	62.50 a ¹	50.00 a	42.50 a	42.50 b	40.00 b	23.75 b
<i>Chaetomium</i>	60.00 a	40.00 a	40.00 a	37.50 b	28.75 b	20.00 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	56.25 a	55.00 a	53.75 a	51.25 ab	40.00 b	18.75 b
Control	48.75 a	55.00 a	57.50 a	61.25 a	83.75 a	93.75 a
C.V.(%)	32.15	28.28	22.45	23.13	19.32	22.25

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ย แบบ Duncan's Multiple Range Test .

ตารางที่ 4.45 เปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* ต่อดิน 20 กรัม ที่ระดับความลึก 30 ซม. ก่อนและภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์(control) ในสภาพแปลงทดลอง ช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541

วิธีการ	Colonization (%)					
	ก่อนทดลอง	2	4	6	8	10
<i>Trichoderma</i>	68.75 a ¹	53.75 a	40.00 a	35.00 a	27.50 b	25.00 b
<i>Chaetomium</i>	56.25 ab	42.50 a	37.50 a	38.75 a	27.50 b	21.25 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	55.00 ab	55.00 a	43.75 a	45.00 a	36.25 b	8.75 c
Control	43.75 b	47.50 a	51.25 a	55.00 a	70.00 a	75.00 a
C.V. (%)	25.58	34.71	30.77	29.49	29.25	23.29

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 จากเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

สำหรับการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ก่อนทำการทดลอง และหลังทดลองทุก 2 เดือน โดยทำการตรวจนับปริมาณ colony forming unit (cfu.) ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ระดับความลึกของดิน 2 ระดับ คือระดับความลึก 15 ซม. และระดับความลึก 30 ซม. ซึ่งก่อนทำการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อก่อโรคในแต่ละแปลงทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความลึกดินทั้ง 2 ระดับ (ตารางที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.46-4.47) หลังจากทำการทดลอง 2 เดือน พบว่าที่ระดับความลึกทั้ง 2 ระดับ ปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* เริ่มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* เพิ่มมากขึ้น ยกเว้นในแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* เมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 10 เดือน พบว่าในแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* *Chaetomium* และ ใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีปริมาณเชื้อก่อโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความลึกดินทั้ง 2 ระดับ ในขณะที่แปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) มีปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* เพิ่มมากขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 3.7×10^3 cfu. ต่อดิน 1 กรัม และ 4.6×10^3 cfu. ต่อดิน 1 กรัมที่ระดับความลึกดิน 15 และ 30 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าปริมาณเชื้อก่อโรคที่พบในแปลงที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทั้งสามวิธีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.46 ปริมาณ colony forming unit ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ต่อดิน 1 กรัม ที่ระดับความลึก 15 ซม. ก่อนและภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลอง ช่วงเดือนเมษายน 2540-มกราคม 2541

วิธีการ	ปริมาณเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> ($\times 10^3$ cfu.)					
	ก่อนทดลอง	2 เดือน	4 เดือน	6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน
<i>Trichoderma</i>	4.60 a ^{1/}	2.80 ab	4.80 a	3.20 a	3.30 a	2.40 b
<i>Chaetomium</i>	3.20 a	2.60 c	2.90 a	2.40 a	3.00 a	1.90 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	3.10 a	4.90 ab	5.00 a	3.00 a	3.00 a	1.80 b
Control	4.30 a	6.50 a	3.60 a	3.00 a	3.30 a	3.70 a
C.V.(%)	26.58	33.28	31.52	36.06	37.29	28.47

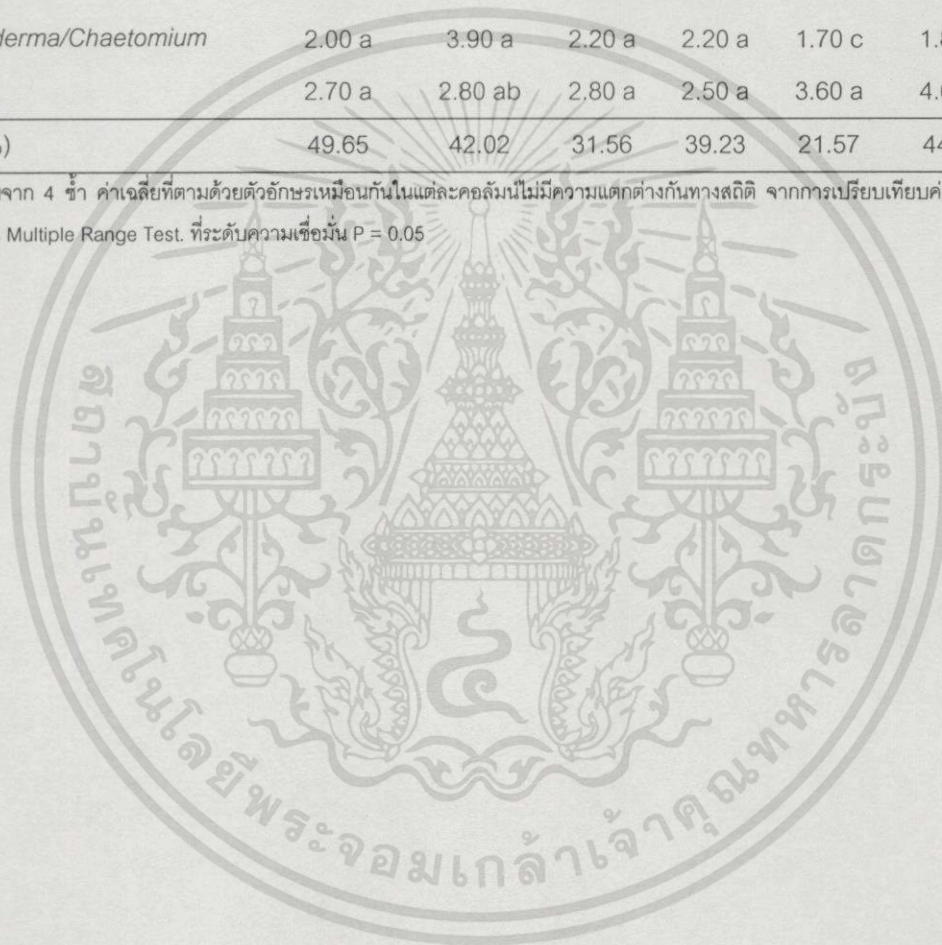
^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test. ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

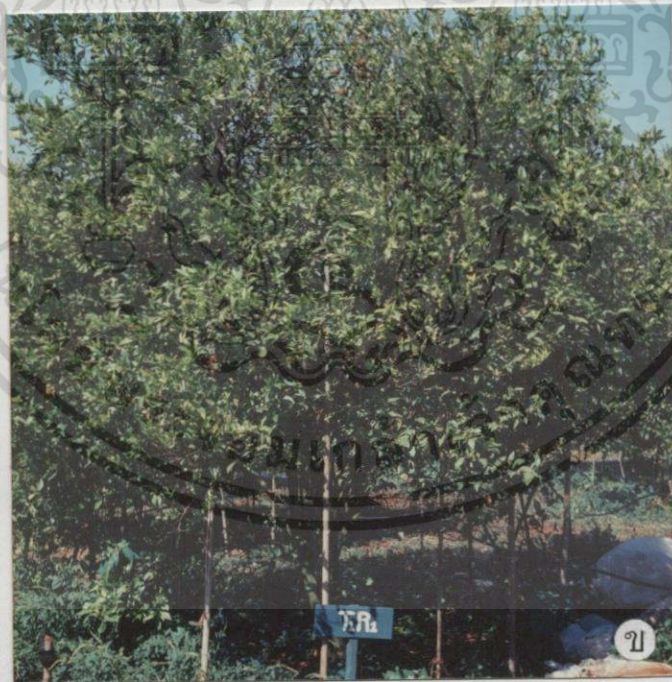
ตารางที่ 4.47 ปริมาณ colony forming unit ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ต่อดิน 1 กรัม ที่ระดับความลึก 30 ซม. ก่อนและภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (control) ในสภาพแปลงทดลอง ช่วงเดือน เมษายน 2540-มกราคม 2541

วิธีการ	ปริมาณเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> ($\times 10^3$ cfu.)					
	ก่อนทดลอง	2 เดือน	4 เดือน	6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน
<i>Trichoderma</i>	2.20 a ^{1/}	1.60 b	3.30 a	2.90 a	2.10 bc	2.40 b
<i>Chaetomium</i>	2.70 a	2.10 b	2.10 a	2.00 a	2.70 b	2.40 b
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	2.00 a	3.90 a	2.20 a	2.20 a	1.70 c	1.80 b
Control	2.70 a	2.80 ab	2.80 a	2.50 a	3.60 a	4.60 a
C.V. (%)	49.65	42.02	31.56	39.23	21.57	44.42

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test. ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.69 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* เป็นเวลา 10 เดือน

ก. ก่อนทำการทดลอง

ข. หลังทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.70 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* เป็นเวลา 10 เดือน

ก. ก่อนทำการทดลอง

ข. หลังทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่วารณิใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

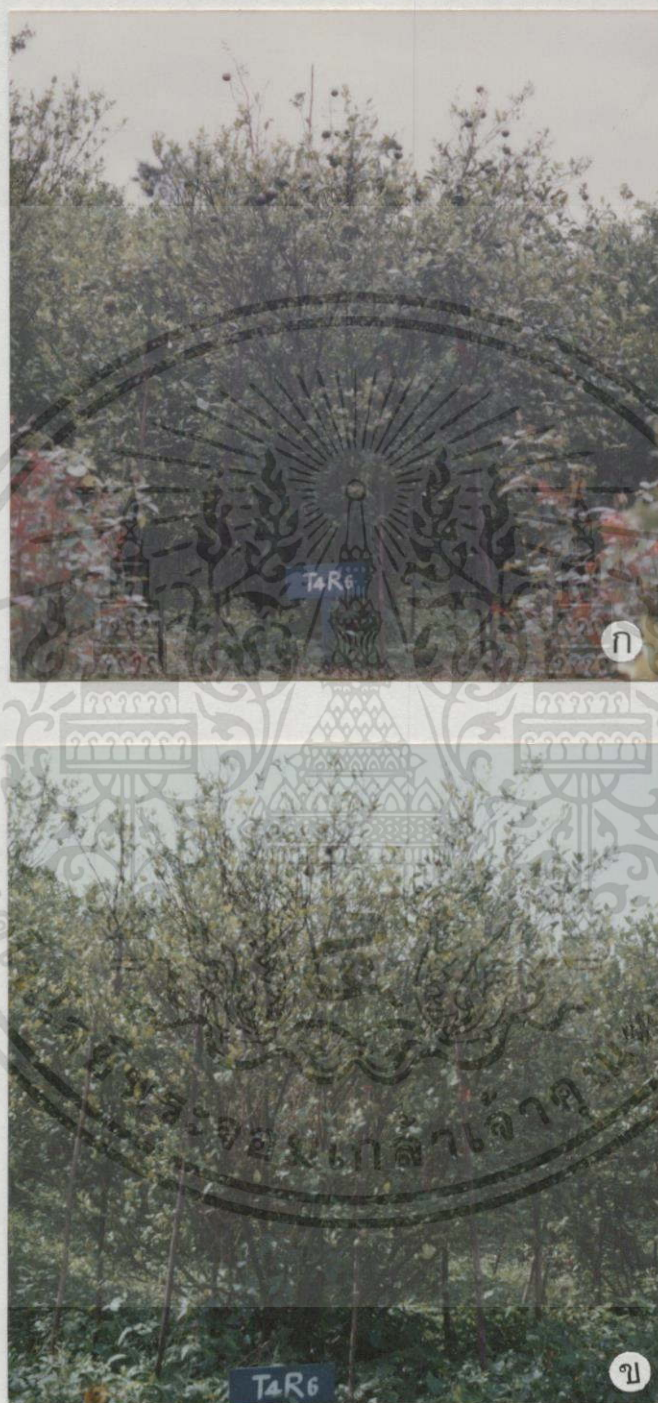


ภาพที่ 4.71 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* เป็นเวลา 10 เดือน

ก. ก่อนทำการทดลอง

ข. หลังทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.72 ต้นส้มเขียวหวานก่อนและหลังการตัดลง ที่ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 10 เดือน

ก. ก่อนทำการตัดลง

ข. หลังทำการตัดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายหลังจากการชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* เป็นเวลา 9 เดือน พบว่า ความยาวของผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด โดยแปลงที่ใช้ *Chaetomium* มีความยาวของผลมากที่สุดเฉลี่ย 5.03 เซนติเมตร รองลงมาคือการใช้ การใช้ *Trichoderma* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีความยาวผลเฉลี่ยเท่ากับ 4.95 และ 4.93 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่แปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด มีความยาวผลเฉลี่ยเท่ากับ 4.74 เซนติเมตร (ตาราง 4.48)

สำหรับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของผล พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* และ *Chaetomium* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 9.81 และ 9.65 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนแปลงที่ใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลเท่ากับ 9.55 ส่วนในแปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลน้อยสุดเท่ากับ 9.25 เซนติเมตร ซึ่งในแต่ละวิธีการมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4.48)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตของส้มเขียวหวาน ภายหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์ การใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* เป็นเวลา 9 เดือน พบว่า น้ำหนักของผลส้มเขียวหวานมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีน้ำหนักผลผลิตเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ใช้วิธีการใด กล่าวคือแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีน้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 107.03, 105.66 และ 101.05 กรัมต่อผล ตามลำดับ (ตารางที่ 4.48) เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตรวมต่อต้น พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีน้ำหนักผลผลิตรวมต่อต้น เพิ่มมากขึ้นโดยไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด กล่าวคือแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีน้ำหนักผลผลิตรวมต่อต้นเท่ากับ 45.16, 52.35 และ 45.47 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใดมีน้ำหนักผลผลิตรวมเท่ากับ 27.79 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 4.48)

ตารางที่ 4.48 การเจริญทางด้านผลผลิตของส้มเขียวหวาน ภายหลังจากใช้ชีวผลิตภัณฑ์

Trichoderma, Chaetomium เปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด(control) ในแปลงทดลอง

วิธีการ	ความยาวของผล (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลาง ของผล(ซม.)	น้ำหนักผลผลิต (กรัม)	น้ำหนักผลผลิต (กก.ต่อต้น)
<i>Trichoderma</i>	4.95 ab ^{1/}	9.81 a	107.03 a	45.16 a
<i>Chaetomium</i>	5.03 a	9.65 a	105.66 a	52.35 a
<i>Trichoderma/Chaetomium</i>	4.93 ab	9.55 ab	101.05 a	45.47 a
Control	4.74 b	9.25 b	95.62 b	27.79 b
C.V(%)	3.79	2.77	9.36	6.89

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 ค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ที่ไร่กาญจนศักดิ์ จังหวัดตาก พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 กล่าวคือลักษณะต้นโทรมลง ใบซีด ยอดอ่อนใบเล็กลงและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ยเท่ากับ 3 กล่าวคือปรากฏลักษณะอาการของโรคที่สวนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม ซึ่งอยู่ในระดับที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคและดินจากต้นที่เป็นโรค พบเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญคือเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวาน และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อุบลและคณะ (2534) ที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง ส้มเขียวหวานเป็นโรครากเน่า และดินบริเวณต้นที่เป็นโรค ในจังหวัดปทุมธานี สมุทรสาคร นครปฐม และราชบุรี รวม 58 สวน พบส้มเป็นโรครากเน่า 0-60 เปอร์เซ็นต์ โดยพบเชื้อรา *P. parasitica* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าในส้ม เช่น สหรัฐอเมริกา ฟอริดา เท็กซัส และ แคลิฟอเนีย (Matheron and Matejka, 1993; Matheron and Porchas, 1996; Matheron et al.1997 and Timmer et al. 1998a) ในขณะที่ Timmer et al.(1998b) รายงานว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้มหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งทำให้เกิดความเสียหายเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคในใบ ก้านและผล ซึ่งเชื้อ *C. gloeosporioides* สามารถทำให้เกิดโรคกับพืชอื่นๆได้หลายชนิด เช่น พริก ถั่วเหลือง เป็นต้น

จากการจำแนกเชื้อรา *P. parasitica* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยา ซึ่งทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสามารถจำแนกเชื้อรา *P. parasitica* ได้ทั้งหมด 6 isolates ซึ่งแต่ละ isolate มี sporangia รูปร่างค่อนข้างกลม มี papilla เด่นชัด และมีขนาด sporangia เฉลี่ยแตกต่างกัน โดยมีอัตราส่วนความยาวและความกว้างของ sporangia ส่วนใหญ่เท่ากับ 1:1.3 ซึ่งตรงกับรายงานของ อุบล และคณะ (2528) ที่กล่าวว่าลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *P. parasitica* ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพืชหลายชนิดคือ พริกไทย ละหุ่ง สับปะรด มะเขือเทศ เป็นต้น จะมี sporangia รูปร่างค่อนข้างกลม มี papilla เด่นชัด sporangia บาง ขนาด sporangia โดยเฉลี่ยประมาณ 38-45x32-38 ไมครอน อัตราส่วนความยาวและความกว้างของ

sporangia เท่ากับ 1.1–1.3 จากการทดลองนี้ปรากฏว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถแยกได้ทั้งหมด 11 isolates ซึ่งแต่ละ isolate มีความแตกต่างกัน ทางด้านสีของโคโคนี บาง isolate โคโคนีมีสีเทาอมดำ สีขาวอมเทา หรือสีเทาเข้มถึงสีน้ำตาลเข้ม หรือบาง isolate พบการสร้าง setae หรือ chlamydo-spore บาง isolate กลับไม่สร้าง เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Freeman et al.(1998) ที่รายงานว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* แม้จะเป็น species ชนิดเดียวกัน แต่ถ้าแยกมาจากพืชอาศัยต่างชนิดกันหรือแม้แต่พืชอาศัยชนิดเดียวกันแต่ต่างแหล่งก็ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแตกต่างกันไปด้วย เนื่องจากเชื้อรา specie ดังกล่าว มีความแปรปรวนมากนั่นเอง ดังนั้นในการทดลองจึงใช้เทคนิคทางเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสช่วยในการจำแนกเชื้อรา *P. parasitica* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* แต่ละ isolate โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของโปรตีนในสนามไฟฟ้าจากขั้วลบไปสู่ขั้วบวกผ่านตัวกลางคือ polyacrylamide gel ซึ่งพบว่าโปรตีนขนาดใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของเจลได้ช้ากว่าโปรตีนขนาดเล็กที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย จึงปรากฏแถบโปรตีนอยู่ตอนบนของแผ่นเจล ส่วนโปรตีนขนาดเล็กจะปรากฏอยู่ตอนล่างของเจล แต่ถ้าโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันก็จะปรากฏแถบโปรตีนในตำแหน่งเดียวกัน (อภิศรา. 2537 ; วาสนา. 2539) จากการทดลองปรากฏว่าซึ่งจากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates พบการสร้างแถบโปรตีน 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 23–99 KDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ พินิต (2542) ที่รายงานว่าความแตกต่างระหว่าง isolate ของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 สร้างแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.4–97.4 KDa ในขณะที่รายงานของ Sejalon et al. (1997) กล่าวว่ามีการแยกเชื้อ *P. parasitica* สาเหตุโรคในต้นยาสูบโดยวิธี SDSS–PAGE พบการสร้างแถบโปรตีนมากที่สุดซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 34 KDa และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ *P. parasitica* ด้วยวิธี cluster analysis พบว่าสามารถจัดกลุ่มเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ด้วยกันคือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ P202, P203, P102 และ P103

กลุ่มที่ 2 มี 1 isolate ได้แก่ P101

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ P201

ซึ่งจากการแบ่งกลุ่มของเชื้อราข้างต้นมีความแตกต่างจากการทดลองของ พินิต (2542) จากการเปรียบเทียบ protein bands ซึ่งแต่ละแถบมีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน และสามารถแบ่งเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ที่แยกได้จากโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ได้ 5 กลุ่มคือ กลุ่ม A, B, C, D และ E จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates พบการสร้างแถบโปรตีน 11 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 9–102 KDa เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการทดลองของ วีระณีย์ (2542) ซึ่งวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ *Colletotrichum* จำนวน 24 isolates ที่แยกได้จากพืชอาศัยต่างชนิดกัน พบการสร้างแถบโปรตีน 10 แถบ ที่มีน้ำหนักโมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวทช. รับผิดชอบการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ในช่วง 24.5–100 KDa ในขณะที่งานทดลองของ Weng and Chuang (1996) ได้รายงานว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง สร้างแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 20-110 KDa และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี cluster analysis สามารถจัดกลุ่มเชื้อราออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยกันคือ

กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ CFLS041, CFLS063, CFFS023, CFFS061, CFLS064 และ CFLS052 โดยสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 3 isolates ได้แก่ CFFS023, CFLS041 และ CFLS063

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS052

กลุ่มย่อยที่ 1.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS064

กลุ่มย่อยที่ 1.4 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS061

กลุ่มที่ 2 มี 3 isolate ได้แก่ CFLS013, CFFS042 และ CFFS012 โดยสามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS012

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS013

กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS042

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS012

กลุ่มที่ 4 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS031

ซึ่งจากการใช้วิธี cluster analysis ในการจัดกลุ่มซึ่งดูจากการเกิดแถบโปรตีนชนิดเดียวกัน และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันจึงจะถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่จากผลการทดลองจะเห็นว่าเชื้อรา *P. parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates ซึ่งเป็นเชื้อรา species ชนิดเดียวกันได้มีการจัดแบ่งกลุ่มให้อยู่ต่างกลุ่มกัน ซึ่งจากรายงานของ Wattad et al. (1997) พบว่าเชื้อ *Colletotrichum* specie เดียวกันแต่ถูกจัดให้อยู่ต่างกลุ่มกัน เช่นจากการพบในเชื้อ *C. gloeosporioides* หลายๆ isolate ซึ่งแสดงว่าเชื้อราดังกล่าวมีการสร้างแถบโปรตีนที่มีตำแหน่งต่างกัน หรือมีองค์ประกอบของโปรตีนที่แตกต่างกันนั่นเอง อย่างไรก็ตามเหตุการณ์ดังกล่าวอาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากความแปรปรวนของตัวเชื้อเอง ซึ่ง Freeman et al. (1998) กล่าวว่า *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อราที่มีความแปรปรวนสูงมาก ดังจะเห็นได้จากเชื้อราที่มีความหลากหลายทั้งทางด้านสัณฐานวิทยาและในระดับโมเลกุล

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบและผลของส้มเขียวหวาน ของเชื้อรา *P. parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates พบว่าเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่พบว่า *P. parasitica* P101 สามารถทำให้เกิดโรคบนผลส้มเขียวหวานรุนแรงมากที่สุด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุด สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนส่วนของใบและผลส้มเขียวหวานรุนแรงที่สุด ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อแต่ละ isolate มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคได้ต่างกัน ทั้งที่พืชที่ใช้ทดสอบเป็นพืชอาศัยชนิดเดียวกัน ซึ่งปัญหาดังกล่าวอาจเนื่องมาจาก ปัจจัยต่างๆ เช่น ความรุนแรงของเชื้อแต่ละ isolate ความอ่อนหรือแก่ของใบและผลที่นำมาทดสอบแตกต่างกัน และปริมาณของเชื้อก่อโรคตั้งต้นที่ ซึ่ง Alahakoon *et al.*(1994) อธิบายว่าความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของ inoculum ซึ่งในการทดลองใช้ inoculum ในลักษณะ agar disc ซึ่งไม่สามารถควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคตั้งต้นได้ และเมื่อนำเชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกัน บนกิ่งตอนส้มเขียวหวานอายุ 3 เดือน ที่ปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว พบว่าจากการปลูกเชื้อทั้ง 2 isolates ลงบนต้นเดียวกัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าการปลูกเชื้อ *P. parasitica* หรือ เชื้อ *C. gloeosporioides* เพียงอย่างเดียว ซึ่งทำให้ต้นส้มเขียวหวานโทรมลง และตายอย่างรวดเร็ว ในขณะที่บนใบที่ปลูกเชื้อด้วย *C. gloeosporioides* CFLS012 พบแผลจุดสีน้ำตาลและขยายวงกว้างอย่างรวดเร็ว และใบจะร่วงอย่างรวดเร็ว เกิดกิ่งแห้งตายจากยอด ต้นส้มโทรมลงและตายในที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Amusa (1997) โดยพบว่าอาการโรคแอนแทรกโนสของ yam ที่เกิดจากการเข้าทำลายของ *C. gloeosporioides* จะมีขนาดแผลกว้างขึ้นเมื่อมีการเข้าทำลายจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* เข้ามาร่วมด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับกรปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ด้วยเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ Pemberton *et al.*(1998) ยังพบว่า ถั่ว (*Trifolium vesiculosum*) ที่ปลูกใน texas แสดงอาการรากเน่า โดยรากจะมีสีน้ำตาลมีแผลฟกช้ำและเน่าอย่างรุนแรง ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ *Rhizoctonia solani*, *Fusarium proliferatum*, *Pythium ultimum* และ *P. irregulare* เข้าทำลายพืชในช่วงเวลาเดียวกัน และพบว่าเชื้อ *Pythium* spp. เชื้อ *Phytophthora sojae* และ เชื้อ *R. solani* เป็นเชื้อสาเหตุร่วมในการทำให้เกิดโรคในต้นกล้าถั่วเหลืองใน Iowa (Rizvi and Yang. 1996) ซึ่งพบว่าความรุนแรงในการเกิดโรคในพืชอาศัยอาจเกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคหลักเพียงเชื้อเดียวหรืออาจมีมากกว่าหลายเชื้อสาเหตุ และพบว่ากรปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสองชนิดหรือมากกว่าจะช่วยส่งเสริมทำให้เกิดโรคในพืชอาศัยรุนแรงเพิ่มขึ้นด้วย

จากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* P101 เชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 *Chaetomium globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC พบว่าเชื้อรา *P. parasitica* P101 สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ PDA, SDA, CSA และ CDA ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส แต่พบว่าเชื้อรา *P. parasitica* สามารถสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวทช. ผลิตขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ sporangia ได้เฉลี่ยมากที่สุดบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, SDA, CSA ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่มีปริมาณการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 และ pH 5 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน เชื้อ *T. harzianum* PC01 เจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิดที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส และมีปริมาณการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, SDA, CSA ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ทุกระดับ pH ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีปริมาณการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อ *Ch. globosum* CG สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 3 และ 6 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ที่ทุกระดับ pH ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส อาหารเลี้ยงเชื้อ CSA ที่ทุกระดับ pH ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ระดับ pH 3, 4 และ 5 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ อาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ระดับ pH 3 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่พบปริมาณการสร้าง ascospore ได้ดีบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนเชื้อ *Ch. cupreum* CC สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CSA ที่ระดับ pH 3 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่พบปริมาณการสร้าง ascospore ได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 4 และ 6 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการทดลองจะเห็นว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อราแต่ละชนิดจะมีความแปรปรวนตามสภาพของชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ ระดับ pH ของอาหาร และระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ciraj (1996) และ Jin et al. (1996) กล่าวว่าอุณหภูมิ และระดับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยหลักในการชักนำต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิ และระดับ pH จะเป็นตัวแปรต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราแต่ละชนิด แต่พบว่าเชื้อราทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตและมีการสร้างสปอร์ได้ดี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 5-7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วีระณีย์ (2542) ที่รายงานว่าเชื้อ *C. gloeosporioides* และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Ch. globosum* Cg8, *Ch. cupreum* Cc9, *T. harzianum* T88-2 และ Transformant of *T. harzianum* China สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 6-7 ในขณะที่ Kalaimani (1995) รายงานว่า *C. falcatum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคไล่แดงของอ้อย ก็มีการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีในระดับ pH 6-7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ Anjaneyulu *et al.* (1993) พบว่าเชื้อ *C. tabacum* และ *Phyllosticata tabaci* สาเหตุโรคใบจุดของยาสูบ สามารถเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีบนอาหาร Richard's medium ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าที่ระดับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการสร้างสปอร์ของเชื้อ และยังใกล้เคียงกับงานของ Natural *et al.* (1994) ซึ่งด้ทำการศึกษเกี่ยวกับความต้องการอาหาร และความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของหน้าวัว (*Anthurium andreanum*) โดยพบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีและสร้างสปอร์มากที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 5.5 เมื่อบ่มในอุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ สนชัย (2540) และ พินิต (2542) รายงานว่าเชื้อ *P. palmivora* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ระดับ pH และอุณหภูมิ ยังส่งผลทำให้เชื้อราชนิดเดียวกันแต่คนละ isolate มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ต่างกันด้วย ดังเช่นรายงานของ Trajcevski (1994) ซึ่งได้ทดสอบเชื้อ *P. capsici* เชื้อราสาเหตุโรคในพริกขี้หนู จำนวน 4 isolates ได้แก่ S-2 S-3 N-1 และ K-4 พบว่า *P. capsici* N-1 และ S-2 เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 5 ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส สำหรับ isolate S-3 เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6-7 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ส่วน K-4 เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6 ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส และพบว่าอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อปานกลางอยู่ในช่วง 15-20 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เชื้อจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ นอกจากนี้อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ซึ่งจากรายงานของ Bilay and Elliott (1995) กล่าวว่า การเลี้ยงเชื้อ *Ch. thermophilum* บนอาหาร straw agar และ compost agar ที่อุณหภูมิ 37, 43 และ 50 องศาเซลเซียส จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ในขณะที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* (Patel *et al.* 1994)

จากการทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC ต่อการควบคุมเชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 โดยวิธี bi-culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 โดยบ่มเชื้อไว้ในสภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ในระดับที่ดี ซึ่งมีความใกล้เคียงกับงานทดลองของ สนชัย (2540) ซึ่งพบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 76.77 และ 71.38 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ พินิต (2542) พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ได้ 78.45 และ 77.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าเชื้อ *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 63.84 และ 65.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* สุมิตรา (2540) พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* IFFI ได้ 74.13 และ 97.31 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อได้ 63.24 และ 55.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและจากการศึกษาปฏิกิริยาการเข้าทำลายเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ *C. gloeosporioides* CFLS012 โดยเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแตกหักเป็นท่อน ซึ่งสอดคล้องกับ แสงมณี และคณะ (2538) รายงานว่า *T. harzianum* เจริญสร้างเส้นใยพันเป็น coil รัดล้อมรอบเส้นใยของเชื้อ *P. parasitica* และสร้าง hook เกาะติดกับเส้นใยเชื้อโรค แล้วเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคและใช้เป็นอาหาร มีลักษณะแตกต่างจากเส้นใยปกติ ซึ่ง *T. harzianum* สามารถสร้างสาร B-1, 3 glucanase และ chitinase ออกมาย่อยสลายผนังเซลล์ภายนอก (Chet et al. 1981 ; Dennis and Webster. 1971) ในขณะที่ *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* จะสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) เพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยและทำให้เส้นใยแตกหัก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Di-Pietro et al. (1992) และ Amemiya et al. (1994) ที่พบว่า Chaetoglobosin A และ BHT ซึ่งเป็นสารสกัดจาก *Ch. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้ โดยสารปฏิชีวนะดังกล่าวรวมทั้งตัวจุลินทรีย์ต่อต้านเองอาจจะไปมีผลต่อการเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อโรคพืช อีกทั้ง Heller and Theiler(1994) ยังพบว่า *Ch. globosum* สามารถเจริญครอบคลุมไปบนโคโคนีของเชื้อ *Phytophthora* และสามารถทำให้เซลล์ของเชื้อโรคพืชแตกได้ นอกจากนี้ สมเดช และคณะ (2538) ได้รายงานว่ *Ch. cupreum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชื่อ Chaetocuprin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ จากการทดลองพบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญเติบโตได้เร็วในระยะเวลาสั้น ซึ่งพบว่า 3 วัน เชื้อ *T. harzianum* และ *T. hamatum* สามารถเจริญครอบครองโคโคนีของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และ *C. gloeosporioides* CFLS012 ได้ ในขณะที่เชื้อ *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC มีการเจริญเติบโตช้ากว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืช แต่พบว่าโคโคนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจะไม่สามารถเจริญครอบครองเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านได้ เมื่อบ่มเชื้อในระยะเวลา 16 วัน เชื้อ *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC สามารถเจริญครอบครองโคโคนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบสารสกัดจากจุลินทรีย์ ได้แก่ *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) และ Chaetoglobosin C (สารสกัดจากเชื้อ *Ch. globosum*) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ต่อการควบคุมเชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าสารสกัดจากจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดี ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่ขูดกิ่งกล่าวจะลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Ameniya et al.(1994) ซึ่งได้รายงานว่าการใช้สารสกัด Chaetoglobosin A ซึ่งสกัดได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* ที่ความเข้มข้น 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคในมะเขือเทศได้นอกจากนี้พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. albo-atrum* และ *Rhizoctonia solani* ได้อีกด้วย อีกทั้งเชื้อ *Ch. globosum* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสาร BHT และ Chaetonmin ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้เช่นเดียวกัน (Di-Pietro et al. 1992)

จากการทดสอบศักยภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และเชื้อ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน ในสภาพดินปลูกที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ต่างๆ กันคือ ระดับ pH 3, 4, 5, 6 และ 7 ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด อัตรา 10 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ การใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดอัตรา 5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 2.5 กรัมต่อต้น ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ และการใช้สารเคมี carbendazim spray ลงบนใบส้ม และ metalaxyl ราดลงดิน สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสได้โดยจะแปรปรวนตามสภาพ pH ของดินที่ใช้ปลูก อีกทั้งส่งผลต่อปริมาณเชื้อราก่อโรคได้แก่ เชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่เชื้อ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ซึ่งจากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *P. parasitica* มีปริมาณสูงที่ดินปลูกมีระดับ pH 3 และมีปริมาณน้อยลงที่ระดับ pH 7 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Andrivon (1994a) ที่รายงานว่า pH ของดินมีผลต่อการป้องกันเชื้อ *P. infestans* โดยพบว่าการเจริญและการครอบครองของเชื้อ *P. infestans* จะเพิ่มขึ้นที่ pH ของดินอยู่ระดับ 3.73–7.61 แต่พบว่าการติดเชื้อจะลดลงในดินที่มี pH เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูง ในทางกลับกัน Ann *et al.* (1991) พบว่าดินที่มีระดับ pH 6–8 จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. parasitica* *P. palmivora* และ *P. capsici* และดินที่มีระดับ pH 6–7 จะเหมาะสมต่อการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อ *P. infestans* (Phukan and Baruah, 1990)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และเชื้อ *Chaetomium* ในการควบคุมโรคเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวาน ในสภาพแปลงทดลอง พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 10 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์กทม. ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้นส้ม ใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น ใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น พบระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสลดลง และเปอร์เซ็นต์การลดลงของโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ฟินิต (2542) ที่พบว่าการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อ *P. palmivora* ได้ 87.99 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ดลดการเกิดโรคได้ 84.70 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด ลดการเกิดโรคได้ 68.36 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สนชัย (2540) รายงานว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* ลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนลง 81.04 เปอร์เซ็นต์ การใช้ *Trichoderma* ทำให้การเกิดโรคลดลง 80.60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงส่งผลทำให้ปริมาณของเชื้อก่อโรคมีปริมาณลดลง และปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเพิ่มขึ้น และพบว่าปริมาณของเชื้อก่อโรค และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน อุณหภูมิดิน อุณหภูมิอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ระดับความลึกของดิน และปริมาณธาตุอาหารในดิน ดังรายงานของ Zhu *et al.* (1998) ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *P. capsici* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่อุณหภูมิ 25–28 องศาเซลเซียส เศษซากพืชในดิน การเปลี่ยนแปลงฤดูกาลจะมีผลต่อจำนวนการเพิ่มหรือลดลงของเชื้อ *P. capsici* ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิดิน และความชื้น เชื้อสามารถแพร่กระจายได้ดีที่ระดับความลึกดิน 0–10 เซนติเมตร โดยเชื้อจะมีชีวิตอยู่รอดในรูปของ sporangia ซึ่งสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ 18 สัปดาห์ ในดินที่มีเศษซากพืช ร่วมกับอินทรีย์วัตถุ และ 8 สัปดาห์ ในเศษซากพืช นอกจากนี้ chlamydospore และเส้นใยของเชื้อ *P. nicotianae* สามารถมีชีวิตอยู่รอดในดินที่มีความชื้น 40 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิ 4–25 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิห้อง โดย chlamydospore มีชีวิตอยู่รอดได้ 8 เดือน ในดิน ส่วนเส้นใยมีชีวิตอยู่รอดได้เพียง 2 เดือน (Wang *et al.* 1998) นอกจากนี้ Andrivon (1994b) พบว่าในดินที่มีอินทรีย์วัตถุ 4.6 เปอร์เซ็นต์ มี pH ดิน 5.6 ดินที่มีอินทรีย์วัตถุ 2.9 เปอร์เซ็นต์ มี pH ดิน 5.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และดินที่มีอินทรีย์วัตถุ 7.6 เปอร์เซ็นต์ มี pH ดิน 3.8 มีความแตกต่างต่อการงอกของเชื้อ *P. infestans* และสัดส่วนในการสร้าง sporangia ในครั้งที่ 2 สำหรับเชื้อ *Colletotrichum Palarpawar and Ghurde* (1992) พบว่าเชื้อ *C. curcumae* สามารถมีชีวิตอยู่รอดในดินที่มีเศษซากพืชที่ระดับความลึก 0, 5, 10 และ 15 เซนติเมตร ได้ถึง 8 เดือน นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *C. coccodes* ในดินที่ระดับความลึก 0, 10 และ 20 เซนติเมตร ซึ่งพบว่าปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นตามระดับความลึกดิน ซึ่งทำความเสียหายให้กับต้นมะเขือเทศเป็นอย่างมาก (Dillard and Cobb, 1998) ในขณะเดียวกันสภาพดินแปลงทดลองที่มีอุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส จะพบขนาดแผลและจำนวนการเพิ่มของโรคเพิ่มขึ้นในแก้วทดลอง ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *C. truncatum* (Khan and Sinclair, 1991) โดยระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสมากที่สุดช่วงปลายเดือน พฤษภาคม อุณหภูมิและความชื้นสูงเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาในการเกิดโรค (Shi and Tong, 1997) จากการทดลองเมื่อปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงส่งผลให้การเจริญเติบโต และปริมาณผลผลิตของส้มเขียวหวานเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lennartz *et al.* (1998) ที่พบว่าเชื้อ *Ch. cochlioides* สามารถลดการแพร่ระบาดของเชื้อ *Botrytis cinerea* ในองุ่น และ *Septoria nodorum* และ *S. tritici* ในข้าวสาลีในแปลงทดลอง ประเทศเยอรมัน โดยพบว่าเมื่อการแพร่กระจายของเชื้อโรคน้อยลงมีผลทำให้ระดับการเกิดโรคลดลงและมีผลผลิตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การให้ *Gliocladium virens* และ *T. longibrachiatum* และอินทรีย์วัตถุ 2 ชนิด ในการควบคุมโรค blight ในข้าว ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* ภายใต้สภาพเรือนทดลองและแปลงทดลอง โดยทั้ง 2 วิธี ผลผสมผสาน โดยพบว่าข้าวมีการเจริญเติบโตและมีผลผลิตเพิ่มขึ้น จากการให้ จุลินทรีย์ต่อต้านผสมกับรำข้าวก่อนไถลงดิน ช่วยเพิ่มปริมาณเชื้อก่อโรค โดยอินทรีย์วัตถุมีผลส่งเสริมจุลินทรีย์ต่อต้าน เพิ่มปริมาณ cfu. ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน และลดความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อโรค (Baby and Manibhushanrao, 1993)

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานที่มีอายุ 7 ปี ที่ไร่กาญจนศักดิ์ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ที่มีพื้นที่ปลูกจำนวน 40 ไร่ จำนวน 80 ต้น พบว่าระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 กล่าวคือลักษณะต้นส้มโทรมลง ใบซีดยอดอ่อนใบเล็กงอและลาย ที่ทรงพุ่มมีกิ่งแห้งตายจากยอดหรือมีรากเน่า 26-50 เปอร์เซ็นต์ และพบระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสเฉลี่ยเท่ากับ 3 กล่าวคือพบอาการของโรคที่ส่วนของใบหรือผล 21-40 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม เมื่อนำชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรค และดินบริเวณต้นที่เกิดอาการโรคมาแยกเชื้อ พบเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญได้แก่เชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสจำนวน 11 isolates เมื่อนำเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจำแนกโดยเทคนิคทางเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อราด้วยวิธี cluster analysis พบว่าเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยคือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ P202, P203, P102 และ P103

กลุ่มที่ 2 มี 1 isolate ได้แก่ P101

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ P201

สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates สามารถจัดกลุ่มเชื้อราออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยกันคือ

กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ CFLS041, CFLS063, CFFS023, CFFS061, CFLS064 และ CFLS052 โดยสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 3 isolates ได้แก่ CFFS023, CFLS041 และ CFLS063

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS052

กลุ่มย่อยที่ 1.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS064

กลุ่มย่อยที่ 1.4 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS061

กลุ่มที่ 2 มี 3 isolates ได้แก่ CFLS013, CFFS042 และ CFFS012 โดยสามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS012

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ CFFS042

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS012

กลุ่มที่ 4 มี 1 isolate ได้แก่ CFLS031

จากการนำเชื้อ *P. parasitica* จำนวน 6 isolates และเชื้อ *C. gloeosporioides* จำนวน 11 isolates ทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนใบและผลของส้มเขียวหวาน พบว่า *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด เมื่อนำ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกันบนกิ่งตอนส้มเขียวหวาน อายุ 3 เดือน พบว่าจากการปลูกเชื้อราทั้ง 2 isolates ลงบนต้นเดียวกันเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงชนิดเดียว ลักษณะอาการพบว่าจากการปลูกเชื้อ 2 isolates ลงบนต้นเดียวกันจะส่งเสริมทำให้กิ่งตอนส้มเขียวหวานโทรมลงและตายอย่างรวดเร็ว โดยบนใบพบแผลจุดสีน้ำตาลและขยายวงกว้างอย่างรวดเร็วและใบร่วงอย่างรวดเร็ว เกิดกิ่งแห้งตายจากยอด ต้นส้มโทรมลงและตายในที่สุด

จากการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* P101 เชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 และเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้าน 4 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Chaetomium globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด ที่ระดับ pH แตกต่างกัน โดยบ่มเชื้อไว้ในที่อุณหภูมิต่างๆ กัน เพื่อศึกษาถึงความต้องการสภาพที่เหมาะสมของเชื้อรา ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปปรับใช้ในการควบคุมโรคพืชอย่างได้ผลดียิ่งขึ้น พบว่าชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ระดับ pH ของอาหาร และความแตกต่างของอุณหภูมิ มีผลทำให้การเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราแต่ละชนิดแตกต่างกัน แต่พบว่าเชื้อราทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดในอาหาร PDA ที่ระดับ pH 7 ที่บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จากการทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC ต่อการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 โดยวิธี bi-culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระดับ pH 7 โดยบ่มเชื้อไว้ในที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *P. parasitica* P101 พบว่าเชื้อ *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 70.15, 66.48, 40.06 และ 42.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถยับยั้งการสร้าง sporangia ของเชื้อได้ 79.47, 61.45, 56.29 และ 57.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการสร้าง oospore ของเชื้อได้ 55.23, 48.37, 53.24 และ 57.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าเชื้อ *T.*
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

harzianum PC01, *T. hamatum* PC02, *Ch. globosum* CG และ *Ch. cupreum* CC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 65.87, 54.91, 53.70 และ 51.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อได้ 99.58, 90.84, 39.54 และ 50.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการศึกษากลไกการควบคุมโรคพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 ทำให้เส้นใยแตกหัก ส่วนเชื้อ *Ch. globosum* CG และเชื้อ *Ch. cupreum* CC สร้างสารปฏิชีวนะย่อยสลายเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 ให้สลายลง

จากการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *T. Harzianum* (สกัดโดยใช้ EtoAc) , *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *T. harzianum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ MeOH), *Ch. globosum* (สกัดโดยใช้ Hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ Hexane) และ Chaetoglobocin C (สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum*) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ในการควบคุมเชื้อ *P. parasitica* P101 และเชื้อ *C. gloeosporioides* CFLS012 พบว่าสารสกัดจากจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ดีที่สุดโดยการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคจะลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรคโนสของส้มเขียวหวานในสภาพดินปลูกที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างๆ กันคือ pH 3, 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับ ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* ชนิดเม็ด อัตรา 10 กรัมต่อดิน ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 5 กรัมต่อดิน ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดอัตรา 5 กรัมต่อดิน ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด อัตรา 2.5 กรัมต่อดิน ใส่ลงดิน และฉีดพ่นชนิดผง 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 2 สัปดาห์ ใช้สารเคมี carbendazim spray ลงบนใบส้ม และ metalaxyl ราดลงดิน สามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรคโนสได้แตกต่างกันตามสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินที่ใช้ปลูก โดยพบเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ *P. parasitica* มีปริมาณสูงในวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* ที่ระดับ pH ดินเท่ากับ 3 ส่วนปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* มีมากที่สุดในการที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) ที่ pH ดินเท่ากับ 5 และ 4 สำหรับเชื้อ *Trichoderma* พบปริมาณเชื้อมากที่สุดในการที่ใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ที่ระดับ pH ดินเท่ากับ 7 ในขณะที่พบปริมาณเชื้อ *Chaetomium* มากที่สุดในวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* ที่ระดับ pH ดินเท่ากับ 4 ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณของเชื้อรา *P. parasitica* และ *C. gloeosporioides* และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อต้าน *Trichoderma* และ *Chaetomium* จะแปรปรวนไปตามวิธีการควบคุมโรค และสภาพ pH ของดินปลูกด้วย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* และ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน ในแปลงทดลองที่พบการระบาดของโรคมากก่อน โดยการใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 10 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้นส้ม ใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น การใช้ *Trichoderma* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น เปรียบเทียบกับการไม่ใช้จุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียวในอัตรา 10 กก.ต่อต้น ทุก 4 เดือน โรยรอบโคนต้น (control) พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในการลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า และโรคแอนแทรกโนส เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน (control) แต่ทั้ง 3 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันในการลดระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าและโรคแอนแทรกโนส จากการทดลองพบว่าปริมาณของเชื้อ *P. parasitica* โดยการตรวจนับเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อ ที่ระดับความลึกดิน 2 ระดับคือ 15 และ 30 เซนติเมตร พบว่าแต่ละวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* พบเปอร์เซ็นต์ colonization ของเชื้อรา *P. parasitica* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความลึกดินทั้ง 2 ระดับ สำหรับปริมาณเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ระดับความลึกทั้ง 2 ระดับ พบว่าแต่ละวิธีการมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma*, *Chaetomium* และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับการใช้ *Chaetomium* พบปริมาณเชื้อ (cfu.) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับด้านการเจริญเติบโตของต้นส้มเขียวหวาน พบว่าแปลงทดลองแต่ละวิธีส่งเสริมความสูงของต้น ขนาดทรงพุ่ม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าแปลงทดลองที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ ทำให้น้ำหนักผลผลิตและจำนวนผลผลิตต่อต้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ไม่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์(control)

เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2532ก. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ข. การใช้รา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช. 9(1):28-33.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ค. การควบคุมโดยชีววิธีของโรคโคนเน่าข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่. วารสารโรคพืช. 9(2-4) : 47 - 53.
- เกษม สร้อยทอง. 2534ก. การใช้รา *Chaetomium gracile* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* F. sp. *lycopersici*. วิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 8(2) : 1 - 7.
- เกษม สร้อยทอง. 2534ข. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด. รายงานผลการวิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29.
- เกษม สร้อยทอง. 2535. การใช้ยาที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* F.sp. *lycopersici* ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช. Bangpra Center Journal. 29(2) : 13 - 16.
- จิระเดช แจ่มสว่าง, สุรามาศ อินต๊ะสอน และ อำไพวรรณ ภราดรานุวัฒน์. 2538. บทบาทของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีเมทาแลคซิลในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* หน้า 231 (บทคัดย่อ) รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาพืช วันที่ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2538 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชลิดา อุณภูมิ. 2538. แมลงศัตรูส้ม. ในหนังสือแมลงศัตรูไม้ผล. หน้า 21-40. เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- ไชยา อ้อยสูงเนิน. 2531. การปลูกส้มเขียวหวาน. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน : กรุงเทพฯ, 71 หน้า.
- บรรพต ณ ป้อมเพชร. 2525. การควบคุมแมลงศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์/สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 202 หน้า.
- เปรมปรี ณ สงขลา. 2538. รวมกลยุทธ์ส้ม. เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ : 226 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พินิต สดสะอาด. 2542. การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Bult. โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 151.
- ฝ่ายวิเคราะห์ข้อมูลส่งเสริมการเกษตร. 2536. สถิติการปลูกไม้ผล-ไม้ยืนต้น ปี 2536. กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร : 367 หน้า.
- ฝ่ายวิเคราะห์ข้อมูลส่งเสริมการเกษตร. 2540. สถิติการปลูกไม้ผล-ไม้ยืนต้น ปี 2537. กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร : 370 หน้า.
- วาสนา ศิริรังษี. 2539. Gel electrophoresis. ใน : วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน. ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วีระณีย์ ศรีพรหมสุข. 2542. การใช้เทคนิคทางเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสเพื่อจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 113.
- สนชัย เพ็ชรพรหม. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าที่เรื้อรังที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สมเดช กนกเมธากุล, ขวัญใจ กนกเมธากุล และเกษม สร้อยทอง. 2538. การศึกษาสารเคมีจากเชื้อราคีโตเมียมคิเวปรัม. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2538. ขอนแก่น. หน้า 28.
- สุนิรัตน์ สีมะเดื่อ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภราดรนุวัฒน์ และ ขวลิต สงประยูร. 2540. การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อการควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสวนของเกษตรกร. หน้า 315. (บทคัดย่อ) รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาพืช วันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุมิตรา น้อยเยี่ยม. 2540. การควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สาคร ชยันต์นคร. ม.ป.พ. รวมเรื่องการทำสวนส้ม (ไร้ส้ม). รุ่งเรืองสาส์นการพิมพ์ : กรุงเทพฯ, 40 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อารักขรา ชมิทธ์. 2537. เทคนิคอิลิกโทรไฟรซีส. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อุบล คือประโคน, สมศักดิ์ เสียงก้อน และสัญญาชัย ตันตยาภรณ์. 2528. เชื้อรา *Phytophthora* ชนิดต่างๆ ในประเทศไทย. หน้า 409-420. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 23 สาขาพืช วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- เอียน ศิลาชัย. 2536. โรคพืชไม้ผล สมุนไพร และการป้องกันกำจัด กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 314 หน้า.
- Alahakoon, P.W., Brown, A.E. and Sreenivasaprasad, S. 1994. Cross-infection potential of genetic group of *Colletotrichum gloeosporioides* on tropical fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 44 : 93-103.
- Andrison, D. 1994a. Fate of *Phytophthora infestans* in a suppressive soil in relation to pH. *Soil Biology and Biochemistry*. 26(8) : 953-956.
- Andrison, D. 1994b. Dynamics of the survival and infectivity to potato tubers of sporangia of *Phytophthora infestans* in three different soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 26(8) : 945-952.
- Anjaneyulu, C., Nagarajan, K. and Lal, R.J. 1993. Physiological studies on *Colletotrichum tabacum* and *Phyllosticta tabaci* causing leaf spot diseases of tobacco. *Tobacco-Research*. 19 (2) : 96-101.
- Ann, P.J., Ko, W.H. and Kao, C.W. 1991. Disease controls of soil borne *Phytophthora* and their suppressive soil in Taiwan. *Plant Protection Bulletin Taipei*. 33(1):142-147.
- Amemiya, Y., Kondo, A., Hirano, K., Hirukawa, T. and Kato, T. 1994. Antifungal substances produced by *Chaetomium globosum*. *Technical Bulletin of Faculty of Horticulture Chiba University*. 48 : 13-18.
- Amusa, N.A. 1997. Fungi associated with anthracnose symptoms of yam (*Dioscorea* spp.) in south-west Nigeria and their roles in disease severity. *Crop-Research-Hisar*. 13(1) : 177-183.
- Baby, U.I. and Manibhushanrao, K. 1993. Control of rice sheath blight through the integration of fungal antagonists and organic amendments. *Tropical Agriculture*. 70(3) : 240-244.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bilay, V.T. and Elliott, T.J. 1995. Interaction of thermophilic fungi from mushroom compost in different agar media and temperatures. *Mushroom Science XIV*, Volume 1. Proceedings of the 14th international congress on the science and cultivation of edible Fungi, Oxford, UK, 17-22 sep. 1995. 251-255.
- Ciraj, M. 1996. Impact of some sulfonylurea herbicides upon selected soil fungi. *Sodobno kmetijstvo*. 29(3) : 99-108.
- Chambers, S.M. and Scot, E.S. 1995. In vitro antagonism of *Phytophthora cinnamomi* and *P. citricola* by isolates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. *Phytopathology*. 143(8) : 471-477.
- Correll, J.C., Morelock, T.E., and Guerber, J.C. 1993. Vegetative compatibility and virulence of the spinach anthracnose pathogen *Colletotrichum dematium*. *Plant Disease*. 77:688-691.
- Dillard, H.R. and Cobb, A.C. 1998. Survival of *Colletotrichum coccodes* in infected tomato tissue and in soil. *Plant disease*. 82(2) : 235-238.
- Di-Pietro, A.D., Gut, R.M., Pachlatko, J.P., Schwinn, F.J. and Di, P.A. 1992. Role of antibiotic produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off. *Phytopathology*. 82 : 2, 131-135.
- Duvenhage J. A. and Kitze, J.M. 1993. Biocontrol of root rot of avocado seedlings. *Year book South African Avocado Growers*. 16 : 70 - 72.
- Fang J. G. and Tsao, P.H. 1995 a. Evaluation of *Pythium nunn* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora* root rots of azalea and sweet orange. *Phytopathology*. 85 : 29 - 36.
- Fang J. G. and Tsao, P. H. 1995 b. Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a biological control agent against *Phytophthora* root rots of azalea and sweet orange. *Phytopathology*. 85 : 871 - 878.
- Freeman, S., Katan, T. and Shabi, E. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*. 82 : 596-605.
- Freitas, S. and Pizzinatto, M.A. 1997. Action of rhizobacteria on the *Colletotrichum gossypii* incidence and growth promotion in cotton seedlings (*Gossypium hirsutum*). *Summa Phytopathologica*. 23 : 36-41.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Heller, W.E. and Theiler, H.R. 1994. Antagonism of *Chaetomium globosum*, *Gliocladium virens* and *Trichoderma viride* to four soil-borne *Phytophthora* species. *Phytopathology*. 141 : 390-394.
- Hwang, B.K. and Kim, B.S. 1995. In vivo efficacy and in vitro activity of tubercidin, an antibiotic nucleoside, for control of *Phytophthora capsici* blight in *Capsicum annuum*. *Pesticide Sci.* 44 : 255-260.
- Jin, X., Taylor, A.G. and Harman, G.E. 1996. Development of media and automated liquid fermentation methods to produce desiccation tolerant propagules of *Trichoderma harzianum*. *Biological Control*. 7 (3) : 267-274.
- Kalaimani, T. 1995. Growth and sporulation of six isolates of sugarcane red rot (*Colletotrichum falcatum* Went.) at different temperature and hydrogen ion concentration. *Cooperative Sugar*. 27 : 269-274.
- Khan, M. and Sinclair, J.B. 1991. Effect of soil temperature on infection of soybean roots by sclerotia-forming isolates of *Colletotrichum truncatum*. *Plant Disease*. 75(12) : 1282-1285.
- Lennartz, B., Schoene, P. and Oerke, E.C. 1998. Biocontrol of *Botrytis cinerea* on grapevine and *Septoria* spp. on wheat. Proceedings, 50th international symposium on crop protection, Gent, 5 May 1998. Part IV. Mededelingen Faciteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent. 63(36) : 963-970.
- 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 : 1132-1138.
- Natural, M.P., Balmaceda, F. and Estrada, M.J.C.M. 1994. Anthracnose of *Anthurium andreaeanum* Andre. Pest Management Council of the Philippines, Inc., College, Laguna. PMCP. 86pp.
- Matheron, M.E. and Matejka, J.C. 1993. Seasonal differences in susceptibility of three citrus rootstocks to root lesions caused by *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica*. *Plant Disease*. 77 : 729-732.

- Matheron, M.E. and Porchas, M. 1996. Colonization of citrus root by *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* in daily soil temperature fluctuations between favorable and inhibitory levels. *Plant Disease*. 80 : 1135-1140.
- Matheron, M. E., Porchas, M. and Matejka, J.C. 1997. Distribution and seasonal population dynamics of *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* in Arizona citrus orchard and effect of fungicides on tree health. *Plant Disease*. 81 : 1384-1390.
- Michereft S. J., Menezes, M. and Mariano, R. L. r. 1993. Antagonism of *Trichoderma* species against *Colletotrichum gramimicola* and agent of sorghum anthraenose, under laboratory conditions. *Phytopathologica*. 19 (1) : 14 - 17 .
- Palarpawar, M.Y. and Ghurde, V.R. 1992. Survival of *Colletotrichum curcumae* causing leaf spot of turmeric. *Indian Phytopathology*. 45(2) : 255-256.
- Patel, S.I., Ashok, M. and Mishra, A. 1994. Some physiological studies on *Trichoderma harzianum* Rifai. *Gujarat-Agricultural University Research Journal*. 19(2) : 53-56.
- Pemberton, I.J., Smith, G.R., Philley, G.L., Rouquette-FM.Jr. and Yuen, G.Y. 1998. First report of *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, *Rhizoctonia solani* AG4 and *Fusarium proliferatum* from arrowleaf clover (*Trifolium vesiculosum*) : a disease complex. *Plant Disease*. 82 : 1, 128.
- Phukan, S.N. and Baruah, C.K. 1990. Effect of certain soil factors on the viability of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Indian Journal of Ecology*. 17(1) : 73-75.
- Rizvi, S.S.A. and Yang, X.B. 1996. Fungi associated with soybean seedling disease in Iowa. *Plant Disease*. 80 : 1, 57-60.
- 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.
- Sejalon - D.N., Villalba, M.F., Bottin, A., Rickauer, M., Dargent, R. and Esquerre - T.M.T. 1997. Purification, Elicitor activity, and cell wall localization of a glycoprotein from *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* a fungal pathogen of tobacco. *Phytopathology*. 87 : 899-909.
- Shi, Z. and Tong, X.M. 1997. Occurrence and control of scallion anthracnose. *China Vegetables*. 1 : 8-10.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Smith, V.L., Wilcox, W.F. and Harman, G.E. 1990. Potential for biological control of *Phytophthora* root and crown rots of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. *Phytopathology*. 80(9) : 880-885.
- Suzui T., Kueprakone.U. and Kamhangridthirong.T. 1976. *Phytophthora* disease on some economic plants in Thailand. Tech. Bull. Plant Pathology Div. Dept. Agric., Thailand and TARC, Min. Agric and Forestry, Japan. 113 pp.
- Timmer, L.W., Graham, J.H. and Zitko, S.E. 1998a. Metalaxyl – resistant isolates of *Phytophthora nicotianae* : Occurrence, sensitivity, and competitive parasitic ability on citrus. *Plant Disease*. 82 : 254-261.
- Timmer, L.W., Brown, G.E. and Zitko, S.E. 1998b. The role of *Colletotrichum* spp. in postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. actatum* on fruit. *Plant Disease*. 82 : 415-418.
- Trajcevski, T. 1994. Effect of temperature, pH and nutrient media on the growth of *Phytophthora capsici*. *Zastita Bilja*. 45 : 3, 209-214.
- Wattad, C., Kobilier, D., Dinoor, A. and D. Prusky. 1997. Pectate lyase of *Colletotrichum gloeosporioides* attacking avocado fruits : cDNA cloning and involvement in pathogenicity. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 50 : 197-212.
- Wang, G., Zheng, X.B., Lu, J.Y., Li, T.F. and Wang, G. 1998. Survival of chlamydospores and mycelia of *Phytophthora nicotianae* in soil. *Journal of Nanjing Agricultural University*. 21(1) : 41-45.
- Weng, F.Y. and Chuang, T.Y. 1996. Analysis of enzyme composition in the spore matrix of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose. *Plant Pathology Bulletin*. 5 : 181-187.
- Xu T., Zhong, J. P. and Li, D. B. 1993. Antagonism of *Trichoderma harzianum* T 82 and *Trichoderma* sp. NF. 9 against soil borne fungus pathogens. *Phytopathologica*. 23 (1) : 63 - 67.
- 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.
- Zhu, Z.Y., Wu, L.Z., Lu, S.H. and Wang, S.J. 1998. Studies on seasonal fluctuation and survival of *Phytophthora capsici* in soil. *Acta Agriculturae Shanghai*. 14(4) : 45-50.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรสารละลาย

1. องค์ประกอบของ extraction buffer

Tris pH 7.5	4.482	กรัม
EDTA	0.037	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	2	กรัม
2-Mercaptoethanol	1	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100	มิลลิลิตร

2. องค์ประกอบของ separating gel

สารละลาย A: 30% Acrylamide	3	มิลลิลิตร
สารละลาย B: 1.5 M Tris-HCl/0.4% SDS, pH 8.8	1.88	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	2.63	มิลลิลิตร
10% Ammonium persulfate	25	ไมโครลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร

3. องค์ประกอบของ stacking gel

สารละลาย A: 30% Acrylamide	0.65	มิลลิลิตร
สารละลาย C: 0.5 M Tris-HCl/0.4% SDS, pH 6.8	1.25	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	3.05	มิลลิลิตร
10% Ammonium persulfate	25	ไมโครลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร

4. องค์ประกอบของ running buffer

Tris	30.20	กรัม
Glycine	144	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	10	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

5. องค์ประกอบของ sample buffer

Tris	1.52	กรัม
Glycerol	20	มิลลิลิตร
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	2	กรัม
Bromophenol Blue	1	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	40	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8 ด้วย HCl เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100	มิลลิลิตร

6. องค์ประกอบของสารละลาย coomassie blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Methyl alcohol	100	มิลลิลิตร
Coomassie Blue R	0.1	กรัม
Acetic acid	20	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร
7. องค์ประกอบของสารละลาย destaining		
Methyl alcohol	25	มิลลิลิตร
Acetic acid	35	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	440	มิลลิลิตร
8. องค์ประกอบของสารละลาย fixing		
Methyl alcohol	100	มิลลิลิตร
Acetic acid	20	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร
9. 30% Acrylamide solution		
Acrylamide	30	กรัม
Bis	0.8	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส		
10. 4x Tris-Cl / SDS, pH 8.8 (1.5 M Tris-Cl / 0.4% SDS)		
Tris-Cl	18.2	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	0.4	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร
ปรับ pH 8.8 ด้วย 6 N HCl และเติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส		
11. 4x Tris-Cl / SDS, pH 6.8 (0.5 M Tris-Cl / 0.4% SDS)		
Tris-Cl	6.05	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	0.4	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8 ด้วย 6 N HCl และเติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส		
12. 10% Ammonium persulfate		
Ammonium persulfate	100	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 24

19-21 ตุลาคม 2541

ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์

กรุงเทพมหานคร

กำหนดการและบทคัดย่อ
PROGRAMME AND ABSTRACTS

ISBN 974-86505-5-3

24th Congress on Science and
Technology of Thailand

19-21 October 1998

at Queen Sirikit National Convention Center
Bangkok



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษา **วทท-STT The Best Domestic Convention Award 1998** โดยศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อ-สกุล ผู้ริบงานวิจัย นางสาวพรพรรณ อยู่สุวรรณ

สาขาวิชา:

นาย น.ส. นาง ดร. อ. ผศ. รศ. ศ.

ภายภาพ ชีวภาพ
 แพทย์ ทรัพยากร-แวดล้อม
 เกษตร วิศว-เทคโนโลยี
 วิทย-ศึกษา ทั่วไป

ที่ทำงาน ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

BIOLOGICAL CONTROL OF PHYTOPHTHORA ROT OF CITRUS IN THE FIELD

Pornpan Usuwan and Kasem Soylong

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520.

Mycofungicides in pellet forms were used as follows: Trichoderma (PC01+PC02) at the rate of 10 g/plant, Chaetomium (CC+CG) 5 g/plant and mixture of these mycofungicides Trichoderma (5 g/plant) and Chaetomium (2.5 g/plant). These were conducted in the infested field soil with *Phytophthora parasitica* in Pobphra District, Tak Province during April 1997 to January 1998 for preventing root and stem rot of citrus (*Citrus reticulata* Blanco) caused by *P. parasitica*. These mycofungicides were used incorporation with liming for adjusting soil pH and adding organic compost at every 4 months. Result showed that application of Chaetomium could reduce disease incidence which disease reduction was 47.25 percent, followed by the application of mycofungicides mixtures and Trichoderma which the disease reduction were 44.99 and 44.66 percent, respectively when compared with non-treated one. However, the inoculum of *P. parasitica* in soil depth at 15 cm. and 30 cm. had significantly lower in mycofungicides treatment than the non-treated one. it was observed that the mycofungicide treatments were significantly higher in growth parameters than the non-treated one. Moreover, the Chaetomium treatment had the highest yield which averaged as 52.35 kg/plant followed by the application of mycofungicide mixtures and Trichoderma which the average yield were 45.47 and 45.16 kg/plant, respectively when compared to the non-treated control which gave the lowest yield averaged as 27.79 kg/plant.

การควบคุมโรคจากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โดยชีววิธี

พรพรรณ อยู่สุวรรณ และ เกษม สร้อยทอง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

จากการทดลองใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด คือยาเชื้อ Trichoderma (PC01+PC02) ในอัตราส่วน 10 กรัมต่อดัน ยาเชื้อ Chaetomium (CC+CG) ในอัตราส่วน 5 กรัมต่อดัน และการใช้ยาเชื้อ Trichoderma 5 กรัมต่อดัน ร่วมกับยาเชื้อ Chaetomium 2.5 กรัมต่อดัน ในการป้องกันกำจัดโรคจากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora parasitica* ในพื้นที่ที่กำลังมีการระบาดของโรครุนแรงในแปลงทดลองของเกษตรกรที่ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ระหว่างเดือน เมษายน 2540-มกราคม 2541 โดยใช้ยาเชื้อดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. และใช้ปูนขาวปรับสภาพดิน ทุก 4 เดือน พบว่าการใช้ยาเชื้อ Chaetomium สามารถลดการเกิดโรคสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 47.25 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้ยาเชื้อ Trichoderma ร่วมกับยาเชื้อ Chaetomium และยาเชื้อ Trichoderma อย่างเดียว สามารถลดการเกิดโรคเฉลี่ย เท่ากับ 44.99 และ 44.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด(control) จากการทดลองพบว่าปริมาณของเชื้อก่อโรค(inoculum) ของ *P. parasitica* ในระดับความลึกของดิน 2 ระดับคือที่ระดับความลึก 15 และ 30 เซนติเมตร พบว่า *P. parasitica* มีปริมาณลดลงในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ Chaetomium, Trichoderma และการใช้ยาเชื้อร่วม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด(control)ซึ่งมีปริมาณของเชื้อก่อโรคในดินเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเจริญเติบโตของส้มเขียวหวานในวิธีการใช้ยาเชื้อร่วมกัน วิธีการใช้ยาเชื้อ Trichoderma และวิธีการใช้ยาเชื้อ Chaetomium มีการเจริญเติบโตด้านทรงพุ่มและความสูงของต้นดีกว่าการไม่ใช้วิธีการใด(control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าการใช้ยาเชื้อ Chaetomium มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตต่อดันสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 52.35 กิโลกรัมต่อดัน รองลงมาคือ การใช้ยาเชื้อร่วมกัน และการใช้ยาเชื้อ Trichoderma มีปริมาณผลผลิตต่อดันเฉลี่ยเท่ากับ 45.47 และ 45.16 กิโลกรัมต่อดัน ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด(control)ซึ่งมีปริมาณผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 27.79 กิโลกรัมต่อดัน

INDEX KEY WORDS: Trichoderma, Chaetomium, Phytophthora, citrus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง (ไทย) การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา
Phytophthora parasitica โดยชีววิธี

Table 1. Disease index and disease reduction of *Phytophthora* rot of citrus after applying mycofungicides in the field.

Treatments	Disease Index				Disease reduction(%)		
	1 month	3 month	6 month	9 month	3 month	6 month	9 month
<i>Trichoderma</i>	8.66 ab ^v	3.10 b	2.20 b	1.80 b	8.66 ab ^v	33.33 a	44.66 a
<i>Chaetomium</i>	16.71 a	3.05 b	2.30 b	1.85 b	16.71 a	35.41 a	47.25 a
<i>Trichoderma</i> / <i>Chaetomium</i>	1.66 bc	3.25 ab	2.55 b	1.85 b	1.66 bc	25.66 a	44.99 a
Control	0.00 c	3.40 a	3.50 a	3.90 a	0.00 c	0.00 b	0.00 b

^vAverage of five replications. Means with the same common letters in each column are not significantly different.

Table 2. Percentage of colonization of *Phytophthora parasitica* after applying mycofungicides in the field.

Treatments	colonization(%) ^v													
	soil depth (15 cm.)							soil depth (30 cm.)						
	Mar	May	July	Sep.	Nov.	Jan.	Mean	Mar	May	July	Sep.	Nov.	Jan.	Mean
<i>Trichoderma</i>	57 a ²	50 a	42 a	42 b	40 b	23 b	42 b	68 a	53 a	40 a	35 a	27 b	25 b	41 ab
<i>Chaetomium</i>	60 a	40 a	40 a	37 b	28 b	20 b	37 b	56 ab	42 a	37 a	38 a	27 b	21 b	37 b
<i>Trichoderma</i> / <i>Chaetomium</i>	56 a	55 a	53 a	51 ab	40 b	18 b	45 b	55 ab	55 a	43 a	45 a	36 b	8 c	40 ab
Control	48 a	55 a	57 a	61 a	83 a	93 a	66 a	43 b	47 a	51 a	55 a	70 a	75 a	57 a

^vcolonization(%) = number of colonized leaf discs with *P. parasitica* / total number of tested leaf discs x 100.

² Average of four replications. Means with the same common letters in each column are not significantly different.

เอกสารอ้างอิง

1. Pechprom, S. and Soyong, K. 1996. Integrated biological control of Dunan stem and root rot caused by *Phytophthora palmivora*. Proc. of First International Symposium on Biop[est]icides, p 228-233.
2. Soyong, K. 1996. *Chaetomium* as a new broad spectrum mycofungicide. Proc. of First International Symposium on Biopesticide. P.124-132.
3. Xu T., Zhong J. P. and Li D.B. 1993. Antagonism of *Trichoderma harzianum* T 82 and *Trichoderma* sp. NF.9 against soil borne fungus pathogens. *Phytopathologica*. 23(1) : 63-67.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INTEGRATED BIOLOGICAL CONTROL OF PHYTOPHTHORA ROT OF SWEET ORANGE USING MYCOFUNGICIDES IN THAILAND

*K. Soyong, *P. Usuwan, **S. Kanokmedhakul,

K. Kanokmedhakul, *V. Kukongviriyapan, and ****M. Isobe

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand. **Department of Organic Chemistry, Khonkhan University, Thailand. ***Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khonkhan University, Thailand. ****Organic Chemistry Laboratory, Nagoya University, Japan.

Summary: Mycofungicides have been formulated as biological products from *Trichoderma* (*T. harzianum* PC01 and *T. hamatum* PC02) and *Chaetomium* (*C. cupreum* CC1-10 and *C. globosum* CG1-12) in the form of pellets. These were applied in the infested field-soil with *Phytophthora parasitica* integrated other cultural control measures could significantly reduce the pathogen inoculum and incidence of root and stem rot of Sweet orange (*Citrus reticulata* Blanco) when compared with the non-treated one. Antibiotic substances like Chaetoglobosin C and Trichotoxin A50 were proved for control mechanism implies antibiotic. The mycofungicide treatments were significantly higher in growth parameters and yield than the non-treated one. Acute toxicity tests for *Chaetomium* and *Trichoderma* were proved for biological safety which the spores of *Chaetomium* and/or *Trichoderma* showed no apparent signs of acute toxicity in experimental mice.

Keywords: mycofungicides, *Chaetomium*, *Trichoderma*, sweet orange

INTRODUCTION

Citrus reticulata Blanco is one of the most economic important plants cropping in Thailand. The big problem encountered the citrus orchards is root and basal rot caused by *Phytophthora parasitica* Dastur. The pathogen has been invaded in citrus planting areas over 30 years and the growers usually applied the chemical fungicides like Metalaxyl, Alliate etc. and sometimes the infected citrus trees has slowly died for years. Biological control of plant pathogens has successfully provided a relatively recent strategy for integrating with other control measures. It could reduce the heavy use of chemical fungicides, improving agroecosystem and maintain natural balance. There are several reports on the potential use of biological control agents against plant pathogens. *Trichoderma harzianum* is mostly reported as a biological control agent against several plant pathogens e.g. *T. harzianum* antagonistic to *Phytophthora palmivora* (3,4). *Chaetomium globosum* is one of the saprophytic antagonists against several plant pathogens e.g. *Venturia inequalis* (1), *Botrytis cinerea* (2), *P. parasitica* causing Root rot of Sweet Orange (7), *P. palmivora* causing Root rot of Durian and Black Pepper (3,4). There are very few reports indicated that *Chaetomium cupreum* antagonistic to plant pathogens e.g. *Pyricularia oryzae* (5). Screening for biological control potential of *Chaetomium* species and strains was started in 1989. Formulation of the mycofungicide produced from *C. cupreum* Cc1-10 and *C. globosum* Cg1-12 has gradually developed since 1992, and it has now been formulated into pellet and powder preparations (6) and registered for Patent Rights No. 6266, Intl. cl.³ AO1N25/12 (1994). Our investigation on biological control of plant pathogens in the fields using the biological products of *Chaetomium* and *Trichoderma* have been successfully controlled *Phytophthora* rot of Durian which integrating with the other control measures (3). The objective of this study was to evaluate the biological products for biological control of Sweet Orange caused by *P. parasitica* in the field.

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

METHODS

Isolation of the pathogen and pathogenicity test was proved to be a pathogenic isolate. The methods formulated the mycofungicides in this study has been reported by Soyong and Soyong (6). Antibiotics substances has been extracted mycelium mats of tested microbial antagonists and elucidated the pure compounds by IR, MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR. Acute toxicity tests of *Chaetomium* or *Trichoderma* were separately tested. The suspension of *C. cupreum* and *C. globosum* with the concentration of 9.9×10^7 spores/ml. and *Trichoderma*- conidia of *T. harzianum* PC01 and *T. hamatum* PC02 of 10^8 conidia/ml were used. Observation was made for screening effects on the central nervous system and signs of intoxication. Drug response profiles were grouped as effects on the awareness, mood, CNS excitation, motor coordination, muscle tone, reflexes, autonomic signs and dead. Special attention was also paid on signs of gastrointestinal disturbance, possibly due to large amount of fungal spores being fed. The number of animals that die in a 7 days period after a single dosage of intoxication, lethality, behavioural modification were conducted. Field evaluation of the ability of the mycofungicides to control the Root rot of Sweet orange was conducted during 1996-1998 in a commercial orchard in Tak Province, Thailand. The planting stand is 7 years old. Disease incidence was recorded before mycofungicides were applied. There was four disease control treatments: applying , *Trichoderma* pellets 10 g/tree, *Chaetomium* pellets at the rate of 5 g/tree, mixture of *Trichoderma* and *Chaetomium* pellets each of 5 g/tree and non-treated ones served as controls. The treatments were repeated every 4 months, with the same rate of application. Before the treatments were done, the other cultural control practices such as removal of weeds under the canopy, adjusting soil acidity by liming 5 kg/tree, adding organic compost 10 kg/tree, pruning and removal disease plant parts and improving water drainage were integrated. Data were collected as seen in Table 1 and 2 and computed analyses of variance using Randomized Completely Block Design. Mean comparison was calculated Duncan's Multiple Range Test at $P=0.01$. The experiment was repeated five times.

RESULTS AND DISCUSSION

P. parasitica was isolated and proved to be pathogenic to Sweet Orange causing Root rot in Thailand. *C. globosum* was reported to produced an antibiotic namely Chaetoglobosin C and *T. harzianum* produced an antibiotic polypeptide, Trichotoxin A50 which it implies antibiosis as a mechanism of control. The mice fed with suspensions of *Chaetomium* or *Trichoderma* spores at every dose levels had no apparent signs of abnormality or intoxication. The figure of mean lethal dose (LD_{50}) can not obtained from this study, since there were no lethality in experimental animals fed with the highest possible dose of the suspension formulation of mycofungicides. It was noted that this acute toxicity study is by no mean to ensure safety resulted from chronically exposed to the spore formulation and toxicity with regard to some organ systems such as skin, lung and allergy or mutagenesis and carcinogenesis. The tested mycofungicides of *Chaetomium* and/or *Trichoderma* in the forms of pellets to control *P. parasitica* infested soil planted to Sweet orange causing root rot have been compared with the non-treated one in the field. Disease incidence was recorded before and after mycofungicides was treated (Table 1). There was significant ($P=0.01$) reduction in the Phytophthora disease of Sweet Orange trees when using the biological products of *Chaetomium* and *Trichoderma* compared with the non-treated ones every four months. Results from the field showed that using formulated *Chaetomium* or *Trichoderma* could significantly reduce in pathogen inoculum and disease incidence on Sweet Orange trees than the non-treated ones (Table 2). These were similar to previous works that using these biological products to control Phytophthora rot of Durian (3) and Black Pepper (4) in Thailand. This study indicated that the usefulness of integrating new disease control strategies for delivery of mycofungicides produced from selected effective strains of *Chaetomium* spp. and *Trichoderma* spp. with cultural control measures.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

Table 1. Disease index and disease reduction of *Phytophthora* rot of sweet orange after applying mycofungicides in the field.

Methods	Disease Index ¹						
	1 month	3 month	6 month	9 month	3 month	6 month	9 month
T	8.66ab ²	3.10 b	2.20 b	1.80 b	8.66ab ²	33.33 a	44.66 a
C	16.71a	3.05 b	2.30 b	1.85 b	16.71 a	35.41 a	47.25 a
T/C	1.66 bc	3.25 ab	2.55 b	1.85 b	1.66 bc	25.66 a	44.99 a
Control	0.00 c	3.40 a	3.50 a	3.90 a	0.00 c	0.00 b	0.00 b

¹ Disease Index, 1 = no symptom and 9 = severe symptom.

² Average of five replications. Means with the same common letters in each column are not significantly different. T = *Trichoderma* pellets, C = *Chaetomium* pellets

Table 2. Percentage of colonization of *Phytophthora parasitica* after applying mycofungicides in the field.

Methods	Colonization(%) ¹											
	Soil depth (15 cm.)						Soil depth (30 cm.)					
	Mar	May	July	Sep.	Nov.	Jan.	Mar	July	Sep.	Nov.	Jan.	
Mean												
T	57 a ²	50 a	42 a	42 b	40 b	23 b	42	68 a	40 a	35 a	27 b	25 b
C	60 a	40 a	37 b	37 b	28 b	20 b	37b	56 ab	37 a	38 a	27 b	21 b
T/C	56 a	55 a	51 ab	51 ab	40 b	18 b	45b	55 ab	43 a	45 a	36 b	8 c
Control	48 a	55 a	61 a	61 a	83 a	93 a	66a	43 b	51 a	55 a	70 a	75 a

¹ colonization(%) = number of colonized leaf discs with *P. parasitica* / total number of tested leaf discs x 100.

² Average of four replications. Means with the same common letters in each column are not significantly different. T = *Trichoderma* pellets, C = *Chaetomium* pellets.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was partly funded by the International Foundation for Science (IFS), Sweden.

REFERENCES

1. Heye, C. C. and J. H. Andrews. 1983. *Phytopathology* 73:650-654.
2. Kohl, J., Molhoek, W. H. L., C. H. van der Plas and H. J. Fokkema. 1995. *Phytopathology*, 85:393-400.
3. Pechprom, S. and Soyong, K. 1996. Proc. 1st International Symposium on Biopesticides, pp.228-233.
4. Sodsart, P. and K. Soyong. 1998. Proc. 24th Congress on Sci. and Tech. Of Thailand, pp.858-859.
5. Soyong, K. 1992. *J. Plant Protection in Tropics*, 9:17-24.
6. Soyong, K. and K. Soyong. 1996. Proc. 1st International Symposium on Biopesticide. pp.124-132.
7. Usuwat, P. and K. Soyong. 1998. Proc. 24th Congress on Sci and Tech. Of Thailand, pp 862-863.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรพรรณ คู่สุวรรณ เกิดเมื่อวันที่ 6 มีนาคม 2515 ที่จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จ
 การศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2 จากสถาบันราชภัฏนครปฐม
 เมื่อปีการศึกษา 2537 ปัจจุบันดำรงตำแหน่งอาจารย์พิเศษ ภาควิชาโปรแกรมพืชศาสตร์ คณะ
 วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏนครปฐม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้