การศึกษาเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน และการควบคุมโดยชีววิธีด้วยเชื้อรา _Trichoderma_ spp. ที่คัดเลือกจากดินปลูก

STUDY ON CAUSAL PATHOGEN OF STEM ROT AND ROOT ROT OF CROWN OF THORNS (_EUPHORBIA MILII_) AND ITS BIOLOGICAL CONTROL WITH _TRICHODERMA_ SPP. ISOLATED FROM CULTIVATED SOILS

ธวัชชัย เปรมศรี
THAWATCHAI PREMSRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2543

ISBN 974-622-918-4

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน และการควบคุมโดยชีววิธีด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกจากดินปลูก

STUDY ON CAUSAL PATHOGEN OF STEM ROT AND ROOT ROT OF CROWN OF THORNS (EUPHORBIA MILII) AND ITS BIOLOGICAL CONTROL WITH TRICHODERMA SPP. ISOLATED FROM CULTIVATED SOILS

T037667

ธวัชชัย เปรมศรี
THAWATCHAI PREMSRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2543

ISBN 974-622-918-4

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 37667
วัน, เดือน, ปี 19 ก.ย. 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON CAUSAL PATHOGEN OF STEM ROT AND ROOT ROT OF CROWN OF THORNS (EUPHORBIA MILII) AND ITS BIOLOGICAL CONTROL WITH TRICHODERMA SPP. ISOLATED FROM CULTIVATED SOILS

THAWATCHAI PREMSRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2000

ISBN 974-622-918-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2000

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน และการควบคุมโดยชีววิธีด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกจากดินปลูก
นักศึกษา	**นายธวัชชัย เปรมศรี**
รหัสประจำตัว	39065213
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2543
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	**รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์**
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	**รศ.นิพนธ์ วิสารทานนท์**

บทคัดย่อ

การสำรวจเชื้อสาเหตุของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ทำโดยการแยกเชื้อจากต้นโป๊ยเซียนที่เป็นโรคและทดสอบปลูกเชื้อที่แยกได้กับต้นโป๊ยเซียน พบเชื้อรากลุ่มราน้ำที่มีเส้นใยลักษณะสีขาวเป็นเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค เมื่อทำการจำแนกสปีชีส์เชื้อราน้ำดังกล่าวพบว่าคือเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse

เชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เมื่อนำไปปลูกเชื้อกับต้นและกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* จำนวน 8 ชนิด ซึ่งประกอบไปด้วย 4 สปีชีส์คือ ต้นส้มเช้า (*E. liqularia*) ต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ (*E. vigueri*) ต้นสลัดไดหรือต้นน้ำนมแอฟริกา (*E. trigona*) และต้นโป๊ยเซียน (*E. milii*) 5 พันธุ์ ได้แก่ แดงอุดม หนึ่งในจักรวาล ทรัพย์ประเสริฐ ดวงนฤมล และมหามงกุฎ พบว่าต้นส้มเช้ามีความสามารถต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าได้ดีที่สุดและเหมาะสมที่จะใช้เป็นต้นตอในการเสียบกิ่งต้นโป๊ยเซียน ส่วนต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมที่ปัจจุบันนิยมใช้เป็นต้นตอพบว่าอ่อนแอต่อโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า

ทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้บริสุทธิ์จากดินปลูกและรากต้นโป๊ยเซียนได้จำนวน 14 ไอโซเลท (isolate) นำมาทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากแหล่งอื่นอีก 5 ไอโซเลท โดยทดสอบการเป็นโรคกับต้นโป๊ยเซียนและทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อต้านเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* โดยทำการทดสอบคุณสมบัติการเจริญแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรค การเป็นไมโคพาราสิตกับเชื้อสาเหตุโรค การสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค และประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท R1-1 มีประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สูงที่สุดและไม่ก่อให้เกิดโรคกับต้นโป๊ยเซียน เมื่อทำการจำแนกสปีชีส์พบว่าคือเชื้อรา *Trichoderma koningii* Oudemans

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบประสิทธิภาพทางชีววิธีของเชื้อรา *Trichoderma koningii* ในระดับเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อใช้ควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ที่คลุกกล้าเชื้อรา *T. koningii* ใน diatomaceous earth ลงในดินใบก้ามปูที่มีการใส่เชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* พบว่าเชื้อรา *T. koningii* ให้ประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	STUDY ON CAUSAL PATHOGEN OF STEM ROT AND ROOT ROT OF CROWN OF THORNS (EUPHORBIA MILII) AND ITS BIOLOGICAL CONTROL WITH TRICHODERMA SPP. ISOLATED FROM CULTIVATED SOILS
Student	Mr. Thawatchai Premsri
Student ID.	39065213
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2000
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Dusanee Thanaboripat
Thesis Co-advisor	Associate Professor Niphon Visarathanonth

ABSTRACT

Investigation of causal agents of stem rot and root rot of crown of thorns was carried out by infected tissue transplanting isolation in agar medium. Pure culture of the pathogen constantly associated with the infected tissues revealed a fluffy mycelial growth of a fungus being identified as *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse.

Four species of *Euphorbia*, i.e., *E. liqularia* (Som Chao), *E. vigueri* (crown of thorns cv. Jugapud), *E. trigona* (african milk tree) and 5 cultivars of *E. milii*, i.e., crown of thorns cv. Daeng Udom, Nueng Nijugwal, Sup Prasert, Doung Naruemol and Maha Mongkut, were screened for their resistance against the isolated *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*. *E. liqularia* was found to be the best resistant specie to infection by the fungal pathogen. *E. milii* (crown of thorns cv. Daeng Udom) which was used as root stock of crown of throns was, however, susceptible to the infection. *E. liqularia* is suggested to replace *E. milii* (crown of thorns cv. Daeng Udom) for the root stock in commercial scale.

Fourteen isolates of *Trichoderma* spp. obtained from cultivated soils and root tissues of crown of thorns and 5 other isolates of *Trichoderma* spp. from the other sources were studied for their ability to control the growth of *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*. *Trichoderma* sp. isolate R1-1 was found to be able to compete in growth inhibition of *P. nicotianae* var. *parasitica* by mechanisms of competition, mycoparasitism, antibiosis and cellulose lysis. *Trichoderma* sp. isolate R1-1 was identified as *Trichoderma koningii* Oudemans.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trichoderma koningii was tested for biological activities to suppressed stem rot and root rot disease of crown of thorns caused by *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* in greenhouse. The inoculum of *T. koningii* with diatomaceous earth was added to soil previously inoculated with *P. nicotianae* var. *parasitica* inoculum for crown of thorns cv. Daeng Udom planting. It was found that *T. koningii* was able to control and suppress stem rot and root rot disease of this plant.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ด้วยคำแนะนำ คำปรึกษาที่มีประโยชน์อย่างมาก และการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์จาก รศ.ดร. คุษณี ธนะบริพัฒน์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ. นิพนธ์ วิสารทานนท์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม จากภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผศ. เนาวรัตน์ ปานแย้ม ประธานกรรมการวิทยานิพนธ์ ดร. ปราโมทย์ ศิริโรจน์ กรรมการวิทยานิพนธ์ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก จากภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และผศ. อรไท สุขเจริญ กรรมการวิทยานิพนธ์ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากทุกท่านเป็นอย่างมาก และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี ที่ให้คำแนะนำ คำชี้แนะในการวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์สถิติ

ขอขอบคุณ คุณประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน คุณอุบล คือประโคน และคุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ จากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่เอื้อเฟื้อเอกสารในการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* ตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* ตลอดจนสารเคมีบางชนิดที่ใช้ในการศึกษา

ขอขอบคุณ อ.มงคล เพ็ญสายใจ ที่ช่วยเหลือทุก ๆ ด้าน งานวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จึงสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้ (ในปีการศึกษา 2540)

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาทุกคน และบุคคลอื่น ๆ ที่มิได้กล่าวนามในที่นี้ ที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจต่อผู้วิจัยเสมอมา

คุณประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดาและมารดาของผู้วิจัยเองที่เป็นแบบอย่างที่ดีในการดำเนินชีวิต

ธวัชชัย เปรมศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.. I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.. III

กิตติกรรมประกาศ... V

สารบัญ... VI

สารบัญตาราง... X

สารบัญภาพ.. XII

บทที่ 1 บทนำ.. 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์.. 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา... 2

1.3 ขอบเขตการวิจัย.. 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.. 3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 4

2.1 ความสำคัญของต้นโป๊ยเซียน.. 4

2.2 พฤกษศาสตร์ของต้นโป๊ยเซียน.. 5

2.3 ลักษณะของต้นโป๊ยเซียน... 6

2.4 การขยายพันธุ์... 7

2.5 ศัตรูพืชของต้นโป๊ยเซียน.. 9

2.6 หลักการควบคุมโรคพืช.. 10

2.7 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี... 11

2.8 กลไกการควบคุมโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์.. 12

2.9 ชีวภัณฑ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืช.. 13

2.10 การควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp............. 15

2.11 ต้นโป๊ยเซียนกับการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีทางชีวภาพ......... 18

บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย... 19

3.1 การสำรวจลักษณะอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน................ 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนให้บริสุทธิ์.......... 19

3.3 การจำแนกสกุล (genus) เชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน... 19

3.4 การพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ 20

3.5 การจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน.. 20

3.6 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในการทำให้เกิดโรค.. 21

3.7 การคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิดที่ต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน..23

3.8 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 24

3.9 การทดสอบปฏิกิริยาระหว่าง *Trichoderma* spp. กับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน.......... 24

3.10 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ.. 26

3.11 การจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้............ 28

3.12 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง... 28

บทที่ 4 ผลการทดลอง.. 31

4.1 ผลการสำรวจลักษณะอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน.......... 31

4.2 ผลการแยกเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนให้บริสุทธิ์...... 34

4.3 ผลการจำแนกสกุล (genus) เชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน.34

4.4 ผลการพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5 ผลการจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน..... 37

4.6 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในการทำให้เกิดโรค..... 41

4.7 ผลการคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิดที่ต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน..... 44

4.8 ผลการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 44

4.9 ผลการทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน..... 50

4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ..... 50

4.11 ผลการจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้..... 53

4.12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง..... 63

บทที่ 5 วิจารณ์..... 77

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย..... 83

บรรณานุกรม..... 85

ภาคผนวก..... 93

ภาคผนวก ก. 94

ภาคผนวก ข. 97

ภาคผนวก ค. 98

ภาคผนวก ง. 99

ภาคผนวก จ. 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ฉ. 101

ภาคผนวก ช. 102

ภาคผนวก ซ. 104

ภาคผนวก ฌ. 106

ประวัติผู้เขียน.. 110

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ชีวภัณฑ์ควบคุมเชื้อสาเหตุก่อโรคพืชที่รับรองโดยองค์กรอนุรักษ์สภาพแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา......14
2.2 ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma* ที่ผลิตในประเทศต่าง (ไม่ได้ใช้ในสหรัฐอเมริกา)...... 16
2.3 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืชชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย 17
3.1 แหล่งที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 5 ไอโซเลทที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน......25
4.1 สถานที่ตั้งของสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า 4 แหล่ง กิจกรรมของสวนและ โรคที่สำคัญของต้นโป๊ยเซียนที่พบขณะที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง...... 32
4.2 แหล่งที่มา ลักษณะของตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่นำมาแยกเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อตัวอย่างได้เชื้อราเส้นใยสีขาวที่สร้าง zoospore...... 35
4.3 แหล่งที่มาและผลการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลทต่าง ๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ......38
4.4 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลทต่าง ๆ บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส หลังจากบ่มเชื้อ 5 วัน......42
4.5 ระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ โดยทดสอบกับต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม......43
4.6 ชนิดของต้นพืชสกุล *Euphorbia* ที่ใช้ทดสอบ 8 ชนิด และเปอร์เซ็นต์ที่ต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* 45
4.7 ชนิดของกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* ที่ใช้ทดสอบ 8 ชนิด และเปอร์เซ็นต์ที่ต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* 45
4.8 แหล่งที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน 46
4.9 ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* อายุเชื้อ 4 วัน ในการทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* spp...... 54
4.10 ความกว้างของแถบใสใต้ผิวหน้าอาหารสังเคราะห์ที่เกิดจากการใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อรา *Trichoderma* spp. หลังจากปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์...... 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.11 การคงตัวของทรายผสมที่เติมน้ำเพื่อปรับระดับความชื้นต่าง ๆ 64

4.12 จำนวนกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยพันธุ์ที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าหลังปักชำในดินที่ใส่กล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในอัตราส่วนต่าง ๆ หลังปักชำนาน 7 วัน.. 75

4.13 ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตายและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรค หลังปักชำกิ่งพันธุ์โป๊ยเซียนนาน 30 วันในดินใบก้ามปูที่มีกรรมวิธีปฏิบัติที่แตกต่างกัน.................................. 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

3.1 ลำดับคะแนนความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ต่อต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม........... 22

4.1 ลักษณะอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน........................... 33

4.2 ลักษณะของเชื้อราเส้นใยสีขาวที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นโป๊ยเซียนที่กำลังเป็นโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า 36

4.3 ลักษณะอาการของต้นโป๊ยเซียนหลังปลูกเชื้อที่ลำต้นและปลูกเชื้อในน้ำด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้.. 39

4.4 ลักษณะโคโลนี เส้นใย zoosporangium และ zoospore ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. 40

4.5 การทดสอบการต้านทานของต้นพืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิดต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* 47

4.6 การทดสอบการต้านทานของกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิดต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* 48

4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีการเจริญเป็นรูปวงแหวน.................... 49

4.8 แผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนที่ทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 51

4.9 การเจริญแข่งขันของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. ......*parasitica* 52

4.10 การเป็นไมโครพาราสิตของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* ....var. *parasitica* 56

4.11 การทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* sp. หลังบ่มเชื้อ 7 วัน........... 57

4.12 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหารสังเคราะห์ที่มีเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนจะเกิดลักษณะแถบใสใต้ผิวหน้าอาหาร.. 57

4.13 เชื้อรา *Trichoderma atroviride* Karsten ไอโซเลท S5-1 59

4.14 เชื้อรา *Trichoderma aureoviride* Rifai ไอโซเลท S36-1 60

4.15 เชื้อรา *Trichoderma koningii* Oudemans ไอโซเลท R1-1 61

4.16 เชื้อรา *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) von Arx ไอโซเลท S63-1..........62

4.17 เชื้อรา *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray ไอโซเลท S84-1 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.18 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S11-1 ที่มีลักษณะคล้าย *Trichoderma* anamorph of *Hypocrea gelatinosa* (Tode : Fr.) Fr.. 66

4.19 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S27-1.. 67

4.20 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S38-1 และ S38-2.. 68

4.21 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S40-1..69

4.22 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S40-2 ลักษณะคล้าย *Verticillium* จึงจัดจำแนกอยู่ใน section *Hypocreanum*.. 70

4.23 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง....... 71

4.24 การหาอัตราส่วนผสมของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปู และการทดสอบการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง..76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์

โป๊ยเซียนเป็นพืชอวบน้ำชนิดหนึ่งในวงศ์ Euphorbiaceae สกุล *Euphorbia* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euphorbia milii* Des Moul. (Coombes. 1990 ; Brako *et al.* 1995 ; Hyam and Pankhurst. 1995) ก่อนหน้านี้ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ *E. splendens* (Bojer ex. Hook.) Urseh & Leandri (กรมส่งเสริมการเกษตร. 2525) มีชื่อสามัญว่า "Crown of Thorns" หรือ "มงกุฎหนาม" มีถิ่นกำเนิดที่ประเทศแอฟริกา อบิสซิเนีย หมู่เกาะคานารี อเมริกา และเกาะมาดากัสการ์ (วิชัย. 2537) โป๊ยเซียนเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่นิยมปลูกไว้ตามหน้าบ้านตั้งแต่อดีต โดยมีความเชื่อว่าเป็นไม้นำโชคลาภและความเจริญรุ่งเรืองมาสู่ผู้ปลูก จึงมีผู้นิยมปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเป็นไม้ประดับตามบ้านเรือนเป็นจำนวนมาก และมีผู้นิยมประกอบอาชีพปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมากด้วยเช่นกัน ปัญหาที่เกิดขึ้นเมื่อปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นจำนวนมากคือปัญหาเรื่องศัตรูพืช โดยเฉพาะโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า ซึ่งเป็นโรคที่สร้างปัญหาอย่างมากในการปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียน (ดีพร้อม. 2539) โรคชนิดนี้จะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนตายอย่างรวดเร็ว

ปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนได้ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดฉีดพ่นต้นโป๊ยเซียนเพื่อป้องกันโรคดังกล่าว แต่เนื่องจากยังไม่มีรายงานถึงชนิดของเชื้อสาเหตุโรคนี้ ทำให้เกษตรกรเลือกชนิดของสารเคมีที่จะใช้ป้องกันกำจัดโรคนี้ไม่เหมาะสม จึงพบเสมอว่าการป้องกันกำจัดโรคโคนต้นเน่าและรากของต้นโป๊ยเซียนด้วยสารเคมีได้ผลน้อยหรือได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร อีกทั้งปัจจุบันมีกระแสของการอนุรักษ์ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่มีมากขึ้น การผลิตในภาคเกษตรถูกมองว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงและก่อให้เกิดความเสียหาย จึงมีการรณรงค์เพื่อให้มีการลดการใช้สารเคมีที่ใช้ในการเกษตร (เกียรติ. 2538) เนื่องจากพบสารเคมีตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม จึงมีการค้นหาแนวทางอื่นในการควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช วิธีทางชีวภาพเป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทางด้านโรคพืชเป็นอย่างมาก ที่จะใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีข้อเสีย โดยการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคซึ่งเรียกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถเหล่านั้นว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganisms) นำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์เพื่อใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชแทนสารเคมี เชื้อราที่นิยมคัดเลือกมาสำหรับผลิตชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* sp., *Gliocladium*sp. และ *Chaetomium* sp. โดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ได้รับความสนใจมากที่สุด (จิระเดช. 2538ก) การคัดเลือกสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่จะใช้ผลิตชีวภัณฑ์เป็นเรื่องสำคัญ เนื่องจากข้อมูลทางนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในดินบ่งชี้ว่าจุลินทรีย์ทุกชนิดมีการต่อสู้แข่งขันกันเองอยู่ตลอดเวลา ไม่ว่าจะเป็นการแข่งขันเพื่อหาแหล่งอาหารและแร่ธาตุ แหล่งอากาศหรือก๊าซต่าง ๆ ตลอดจนสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในดิน จุลินทรีย์ที่จะใช้ควบคุมโรคพืชซึ่งใส่ลงไปในดินจัดว่าเป็นจุลินทรีย์แปลกปลอมชนิดหนึ่ง ซึ่งต้องต่อสู้แข่งขันกับจุลินทรีย์ท้องถิ่นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ถ้าจุลินทรีย์แปลกปลอมมีความสามารถด้อยกว่าจุลินทรีย์ท้องถิ่น จุลินทรีย์แปลกปลอมจะไม่สามารถดำเนินกิจกรรมและเพิ่มปริมาณหรือมีชีวิตอยู่รอดได้มากนัก ซึ่งหมายความว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรคย่อมลดลงหรือหมดสิ้นไปในที่สุด ในหลักการคัดเลือกจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชนั้นนิยมคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่มีอยู่ในท้องถิ่น (local strain) ไม่ว่าจะเป็นในบริเวณที่พบว่ามีการระบาดของโรค บนพืชอาศัย หรือแม้แต่บนส่วนโครงสร้างของเชื้อสาเหตุโรคที่ต้องการควบคุม ทั้งนี้เพื่อลดปัญหาในเรื่องของการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายในพื้นที่เพาะปลูก (จิระเดช. 2538ข)

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาหาชนิดของเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดินปลูกเพื่อใช้ควบคุมโรคโดยชีววิธี โดยคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีในการปลูกต้นโป๊ยเซียนในเชิงการค้า

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1) เพื่อศึกษาเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

2) เพื่อแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูก

3) เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับห้องปฏิบัติการ

4) เพื่อศึกษากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

5) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการหาเชื้อสาเหตุของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน โดยศึกษาลักษณะอาการต้นโป๊ยเซียนที่กำลังเป็นโรค การแยกเชื้อสาเหตุของโรคให้บริสุทธิ์ การพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ การจำแนกสกุลและสปีชีส์ของเชื้อสาเหตุโรค การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคจากไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกได้ และการทดสอบความต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิด หลังจากนั้นเป็นการศึกษาถึงการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน และจากแหล่งอื่น ๆ มาทดสอบเพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบความสามารถในด้านการเจริญแข่งขัน การเป็นไมโคพาราสิต การย่อยสลายเซลลูโลส และการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดเลือกได้เพื่อจำแนกสปีชีส์ และทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบถึงเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาควบคุมโรคต่อไป

2) สามารถคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

3) ทราบกลไกของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูก เพื่อใช้ในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

4) ทราบแนวทางในการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ในดินที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าระดับดิน เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของต้นโป๊ยเซียน

โป๊ยเซียนจัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่คนไทยรู้จักกันมานานแล้ว ซึ่งแต่เดิมมีการปลูกเลี้ยงกันไม่มากนัก แต่เมื่อประมาณ พ.ศ. 2529 เป็นต้นมามีผู้สนใจและปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนกันเป็นจำนวนมาก (ปัญญา. 2540ก) โป๊ยเซียนได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจนมีการรวมตัวกันของเกษตรกรและผู้ที่สนใจปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนจัดตั้งเป็นชมรม สมาคม หรือกลุ่มผู้ปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนกันทั่วประเทศ โดยมีหน้าที่จัดการประกวดโป๊ยเซียน แลกเปลี่ยนข่าวสาร และรับจดทะเบียนลูกผสมพันธุ์ใหม่ ๆ ปัจจุบันพันธุ์ของต้นโป๊ยเซียนมีมากกว่าหนึ่งหมื่นพันธุ์ (อุไร. 2539) แต่ละพันธุ์มีความนิยมและราคาแตกต่างกัน ลูกไม้หรือลูกผสมพันธุ์ใหม่ ๆ ที่เกิดจากการเพาะเมล็ด ที่มีความสวยงามลักษณะดีจะได้รับความนิยม ในช่วงแรกจะมีราคาสูงหลายหมื่นบาท ต่อมาเมื่อมีลูกผสมพันธุ์ที่ใหม่กว่า ที่มีลักษณะดีและสวยงามกว่าพันธุ์เดิม ความนิยมในพันธุ์แรกจะลดลง และราคาจะตกลงเหลือเพียงไม่กี่ร้อยบาท ลูกผสมใหม่ก็จะมีราคาสูงแทน และเป็นวัฏจักรเช่นนี้เรื่อยไปทุก ๆ พันธุ์ มีการแบ่งกลุ่มโป๊ยเซียนตามราคาในท้องตลาดในปี พ.ศ. 2539 ออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ (อุไร. 2539)

1) พันธุ์ที่เคยได้รับความนิยมในอดีต เป็นพันธุ์ที่มีมานานแล้ว บางพันธุ์มีความสวยงาม มีราคาไม่เกิน 150 บาท ได้แก่พันธุ์ ดาวพระเกตุ ปู่เจ้าสมิงพราย พรหมสถิตย์ เพชรชมพู เป็นต้น

2) พันธุ์ที่เคยได้รับความนิยมเมื่อ 2-3 ปีก่อนปี พ.ศ. 2538 สามารถหาซื้อได้ในราคาตั้งแต่ 150-350 บาท ได้แก่พันธุ์ กุหลาบรามัญ เจ้าพ่อป.ต.อ. ทรัพย์ประเสริฐ พลอยแดง น้อมเกล้า พรรณราย หนึ่งในจักรวาล คมศร ดาวรุ่ง เป็นต้น

3) พันธุ์ที่ได้รับความนิยมในปี พ.ศ 2538 เป็นพันธุ์ที่เกิดขึ้นไม่เกิน 2 ปี มีจำหน่ายในท้องตลาดมาก มีราคาตั้งแต่ 350-1,000 บาท ได้แก่พันธุ์ เจ้าสาว วิจิตรมาลี ศรีอัมพร วิจิตรโฉม ห้วยแก้ว กำแพงเมืองจีนเจ้ายุทธจักร กำแพงเมืองจีนเจ้าเซียน ภูมรินทร์ มนต์จินดา โสภากาญจน์ เป็นต้น

4) พันธุ์ใหม่ที่เริ่มเข้าสู่ท้องตลาดเป็นพันธุ์ที่นำมาจดทะเบียนในปี 2538 คาดว่าจะได้รับความนิยม จะมีราคาสูงถึง 10,000 บาท ได้แก่ ดวงนฤมล เพชรพญาเย็น ดวงพัชราภา ยิ่งใหญ่ ยิ่งรวย เป็นต้น

การตื่นตัวในการปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนทั่วประเทศมีสาเหตุเนื่องมาจากมีการปรับปรุงพันธุ์โป๊ยเซียนให้มีลักษณะสวยงามแปลกตากว่าพันธุ์เดิม ๆ ที่ปลูกกันทั่วไป และมีการผลิตโป๊ยเซียนพันธุ์ใหม่ ๆ ที่ปรับปรุงพันธุ์ได้ออกสู่ท้องตลาดอยู่เสมอ ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ใหม่ที่ลักษณะดีจะมีราคาค่อนข้างสูงเพราะเป็นที่ต้องการของตลาด จึงมีผู้คนหันมาปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเป็นอาชีพเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นจำนวนมากเพราะมีรายได้ดี และผู้ปลูกเลี้ยงเองก็มีความสนุกเพลิดเพลินกับการปลูกเลี้ยง ขยายพันธุ์ สะสมพันธุ์โป๊ยเซียนที่มีหลากหลายเพิ่มมากขึ้น กอปรกับธรรมชาติของโป๊ยเซียนที่เป็นไม้ดอกไม้ประดับที่ปลูกเลี้ยงได้ง่าย เจริญเติบโตเร็ว มีโรคแมลงน้อย และมีอายุค่อยข้างยาวนาน จึงทำให้เกิดการตื่นตัวในการปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนกันทั่วประเทศ นอกจากนี้โป๊ยเซียนจัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่มีคุณค่าทางด้านจิตใจ เนื่องจากความเชื่อที่ว่าต้นโป๊ยเซียนเป็นไม้มงคลและไม้เสี่ยงทาย จึงมีผู้นิยมปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก (ปัญญา. 2540ก)

2.2 พฤกษศาสตร์ของต้นโป๊ยเซียน

โป๊ยเซียนจัดเป็นไม้อวบน้ำชนิดหนึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ซึ่งพืชในวงศ์นี้มีมากกว่า 300 สกุล แต่ละสกุลมีประมาณ 6,550-7,650 ชนิด โป๊ยเซียนจัดอยู่ในสกุล *Euphorbia* มีมากกว่า 2,000 ชนิด พืชที่จัดอยู่ในสกุลนี้จะมีลักษณะพิเศษคือ ลำต้นอวบน้ำ มียางสีขาวที่ลำต้นและใบ (อรดี. 2534) ซึ่งยางสีขาวนี้มีพิษ ต้องระมัดระวังไม่ให้เข้าตาหรือถูกรอยแผลเพราะอาจเป็นอันตรายได้ บางชนิดใช้สกัดน้ำมัน บางชนิดมีหนามแหลมคม บางชนิดใช้ประโยชน์ทางการแพทย์โดยเป็นพืชสมุนไพร (เจริญ. 2533) ตัวอย่างพืชในสกุล *Euphorbia* ได้แก่ ส้มเช้า (*E. liqularia* Roxb.) (เต็ม. 2523) คริสต์มาส (*E. pulcherrima* Willd) (พันธุ์ทิพย์ และคณะ. 2520 ; สนิทและคณะ. 2523) สลัดไดหรือต้นน้ำนมแอฟริกา (*E. trigona*) (พันธุ์ทิพย์ และคณะ. 2520 ; Graf, 1978) พญาไร้ใบ (*E. tirucalli* Linn.) (พันธุ์ทิพย์ และคณะ. 2520) น้ำนมราชสีห์ (*E. chirta* Linn.) (พัฒนา และคณะ. 2534) หญ้ายาง (*E. Heterophylla*) (พัฒนา และคณะ. 2534) และต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ (*E. vigueri*) (Graf. 1981) เป็นต้น

โป๊ยเซียนที่ปลูกกันอยู่ในประเทศไทยในปัจจุบันนี้เป็นพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งมีหลายชนิดส่วนใหญ่ คือ *Euphorbia milii* Des Moulin นอกจากนี้ก็มีชนิดอื่น ๆ อีกคือ *E. decaryi* Quill., *E. didieroides* M. Denis., *E. duranii* Ursch et Leandri, *E. quillanminiana* Boit, *E. horombensis* Ursch et Leandri, *E. isaloensis* Drake, *E. leandriana* P. Bolt และ *E. lophogona* Lam. สำหรับ *E. milii* Des Moulin สามารถแบ่งย่อยลงไปได้อีกเป็น *E. milii* var. *belsiliana*, *E. milii* var. *bevilaniensis*, *E. milii* var. *bevilaniensis* f. *rubrostriata*, *E. milii* var. *breohi*, *E. milii* var. *hislopii*, *E. milii* var. *imperatae*, *E. milii* var. *milii*, *E. milii* var. *splendens*, *E. milii* var. *splendens* f. *platyacantha*, *E. milii* var. *tulearensis* และ *E. milii* var. *vulcanii* นอกจากพันธุ์ดั้งเดิมที่กล่าวมาแล้ว ยังมีพันธุ์ลูกผสมอีกมาก (อรดี. 2534) ส่วนพันธุ์ที่มีลักษณะใบใหญ่ ดอกใหญ่ ที่พบเห็นกันทั่วไป และได้รับความนิยมสูงสุดในขณะนี้ เป็นสายพันธุ์ย่อยสายพันธุ์หนึ่งของ *E. milii* Des Moulin. (ประเสริฐ. 2537) คือ *E. milii* Des Moulin var. *splendens* (Bojer) Ursch & Leandri (อุไร. 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำแนกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นโป๊ยเซียนมีการจำแนกไว้ดังนี้ (วิจิตรและคณะ. 2537)

ชื่อสามัญ : Crown of Thorns

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Euphorbia milii* Des Moulin

CLASS : Angiospermae

SUBCLASS : Dicotyledoneae

ORDER : Geraniales

FAMILY : Euphorbiaceae

GENUS : *Euphorbia*

SPECIES : *milii*

2.3 ลักษณะของต้นโป๊ยเซียน

โป๊ยเซียนเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่จัดเป็นไม้อวบน้ำ มีหนามบริเวณลำต้น ทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี เนื่องจากมีการสะสมน้ำไว้ที่ลำต้น ใบ และราก จึงไม่จำเป็นต้องรดน้ำจนชุ่มเหมือนไม้ดอกไม้ประดับทั่วไป เจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ต้นโป๊ยเซียนมีลักษณะดังนี้ (ประวิทย์ และคณะ. 2539)

2.3.1 ลำต้น

มีลักษณะอวบน้ำ ลำต้นอาจมีลักษณะกลมหรือเหลี่ยมขึ้นอยู่กับพันธุ์ มีหนามแหลมรอบ ๆ ลำต้น เมื่อมีอายุมากขึ้นเนื้อไม้จะแข็งแต่ไม่มีแก่นเหมือนไม้ยืนต้น สีของลำต้นมีสีแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ตั้งแต่สีน้ำตาล สีน้ำตาลอมเหลืองเทา น้ำตาลอมเทา หรือน้ำตาลเข้ม ลักษณะลำต้นมีทั้งตั้งตรง ห้อยย้อยลง มีลำต้นเดียว หรือแตกกอเป็นพุ่ม ขึ้นอยู่กับพันธุ์

2.3.2 หนาม

ลักษณะของหนามจะเกิดรอบ ๆ ลำต้นเป็นคู่ข้าง ๆ ใบ มีฐานใหญ่รูปวงรีและเรียวแหลมบริเวณปลาย อาจชี้ขึ้นหรือลงไม่แน่นอน อาจเป็นหนามเดียว เป็นหนามคู่ หรือเป็นกลุ่มหนามตั้งแต่สามอันขึ้นไปขึ้นอยู่กับพันธุ์ การจัดเรียงตัวของหนามที่ลำต้นอาจบิดเวียนเป็นเกลียวอย่างชัดเจนรอบลำต้น บิดเป็นเกลียวเล็กน้อย หรือเป็นแถวตรง นอกจากนี้สีของหนามยังแตกต่างกันได้แก่สีขาว น้ำตาล เทา ดำ แดงอ่อน แดงอมดำ เขียว ส้ม เป็นต้น ขึ้นอยู่กับพันธุ์

2.3.3 ใบ

ลักษณะของใบเป็นแบบใบเดี่ยว แบน หรือบิดเป็นคลื่น หรือโค้งงอลงหรือขึ้น ส่วนใหญ่ใบจะมีสีเขียว บางพันธุ์ใต้ใบเป็นสีแดง แดงอมม่วง ใบด่าง ลักษณะใบของต้นโป๊ยเซียนมีหลายรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบ เช่นปลายแหลมโคนใบมน หรือปลายมนโคนใบสอบแคบ หรือใบเป็นรูปหัวใจกลับ เส้นใบนูนเป็นรูปขนนกเด่นชัด หรือเส้นใบไม่ชัดเจน เป็นต้น ขนาดใบไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับพันธุ์

2.3.4 ดอก

โป๊ยเซียนจะออกดอกเป็นช่อแต่ละช่อประกอบไปด้วยดอกย่อยตั้งแต่ 4-56 ดอก มีรายงานว่าบางพันธุ์มีจำนวนดอกมากถึง 128 ดอกต่อ 1 ช่อดอก บางพันธุ์มีดอกซ้อนกันถึง 6 ชั้น ปัจจุบันมีการพัฒนาพันธุ์จนบางพันธุ์ขนาดดอกใหญ่กว่า 1 นิ้ว (อรดี. 2534) ดอกของต้นโป๊ยเซียนเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ประกอบด้วยเกสรตัวเมียจำนวน 3 อัน อยู่บนก้านชูเกสรตัวเมียกึ่งกลางของดอก เกสรตัวผู้จะเกิดอยู่รอบ ๆ เกสรตัวเมียจำนวน 5-10 อัน โดยปกติเกสรตัวเมียพร้อมที่จะผสมพันธุ์ก่อนเกสรตัวผู้ 3 วัน กลีบดอกของโป๊ยเซียนที่เห็นเป็นกลีบเลี้ยงที่ทำหน้าที่เป็นกลีบดอกที่เรียกว่า Cyathophylls จำนวน 2 กลีบมีลักษณะกลมและมีสีสันสวยงาม ส่วนที่โคนกลีบอาจซ้อนทับกันหรือไขว้ทับกันหรือประจบกันพอดีก็ได้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ สีของดอกมีมากมายหลายหลากสี เช่นสีแดงสด แดงอมชมพู ชมพูอ่อน ชมพูจัดอมม่วง ขาว นวล ครีม เหลือง ส้ม เขียว เหลืองอมเขียว ครีมประชมพูหรือประแดง อิฐขอบแดง และสีเหลือบต่าง ๆ (อุทัย และสวัสดิ์. 2526) ก้านส่งดอก ส่วนใหญ่จะมีสีเขียว แดงอมดำ แดง และแดงเข้ม อาจตั้งขึ้น แบะออกแนวราบหรือห้อยลู่ลง (มณฑล. 2533) โป๊ยเซียนจะออกดอกตลอดทั้งปี ดอกอาจจะออกน้อยในฤดูฝนแต่จะออกมากและสวยที่สุดในฤดูหนาว

2.3.5 ผล

ลักษณะผลของโป๊ยเซียนจะเป็นแบบ capsule มีจำนวน 3 พู สีเขียวอ่อน เขียวปนเหลืองหรือแดง ภายในแต่ละพูจะมีเมล็ดอยู่ภายในพูละ 1 เมล็ด เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลปนดำขนาดเท่าเมล็ดพริกไทย กระเปาะผลเมื่ออายุยังน้อยจะค่อยปรากฏขึ้นที่ใจกลางดอกจนแก่จะโผล่พ้นจากกลีบดอกและแตกออกในเวลาต่อมา เมล็ดภายในจะถูกดีดให้กระเด็นไปตกไกลจากต้นเป็นการช่วยกระจายพันธุ์โดยธรรมชาติ

2.4 การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนทำได้ง่าย สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้ (อรดี. 2534)

2.4.1 การเพาะเมล็ด

มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้ดีขึ้น เมล็ดของโป๊ยเซียนที่จะนำมาเพาะอาจได้จากการช่วยผสมพันธุ์โดยแมลงหรือจากการผสมโดยมนุษย์เพื่อให้ติดเมล็ดมากขึ้น ในการผสมพันธุ์นิยมทำในตอนเช้าโดยใช้พู่กันหรือขนไก่แตะละอองเกสรตัวผู้ไปใส่เกสรตัวเมีย การผสมต้องผสมข้ามดอกเนื่องจากเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในดอกเดียวกันบานไม่พร้อมกัน หลังจากผสมแล้วประมาณ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัน กลีบเลี้ยงจะเหี่ยว กระเปราะรังไข่จะเริ่มขยายใหญ่ขึ้น จนเห็นเป็นสามพูชัดเจน แต่ละพูจะมีเมล็ดภายในหนึ่งเมล็ด เมื่อรังไข่เจริญยื่นออกมาให้เห็นชัดเจน ควรใช้ถุงคลุมช่อดอกไว้ก่อนเมล็ดจะแห้งมิฉะนั้นเมื่อเมล็ดแห้งจะแตกออก เมล็ดจะถูกดีดให้กระเด็นออกไป เมล็ดที่แก่จะมีสีน้ำตาลเข้มขนาดเท่าหัวเข็มหมุด เมื่อเก็บเมล็ดมาได้แล้วควรเพาะทันที อาจเพาะที่โคนต้นเดิมจะได้ทราบต้นแม่ แต่ทางที่ดีควรจะเพาะในกระถางแยกต่างหากโดยมีส่วนผสมของเครื่องปลูกเช่นเดียวกับการกิ่งชำ โรยเมล็ดลงบนกระบะเพาะแล้วกลบด้วยเครื่องปลูกหนา 0.25 นิ้ว รดน้ำให้ชุ่ม เก็บไว้ในที่ร่ม ใช้เวลาประมาณ 5 วัน เมล็ดจะงอก เมื่อต้นอ่อนมีใบจริง 2-3 ใบ ก็ย้ายลงถุงพลาสติกหรือกระถางเดี่ยวต่อไปโดยใช้ดินผสมปลูก สำหรับต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะเรียกว่าลูกไม้ เมื่อขนาดต้นยังเล็กควรให้น้ำมากกว่าไม้ใหญ่ อาจเพิ่มปุ๋ยทางใบด้วย เมื่อต้นโตขึ้นควรย้ายลงกระถางใหญ่ขึ้น ประมาณ 5 เดือนก็จะเริ่มให้ดอก

2.4.2 การตัดกิ่งชำ

ใช้มีดบาง ๆ หรือกรรไกรคม ๆ ตัดที่โคนกิ่งแขนง ควรเป็นกิ่ง ที่ยาวประมาณ 4-6 นิ้ว ตัดอย่าให้รอยแผลช้ำมิฉะนั้นกิ่งพันธุ์อาจเน่าได้ ถ้าใช้กิ่งแก่จะออกรากได้ยาก ทารอยแผลที่ต้นด้วยปูนแดง ส่วนกิ่งพันธุ์ควรทิ้งให้แผลแห้งเสียก่อน แล้วทาด้วยฮอร์โมนเร่งราก เช่นเซราดิกซ์ เบอร์ 3 แล้วนำไปปักชำให้ออกราก เป็นที่น่าสังเกตว่า ความสามารถในการออกรากจะยากหรือง่ายขึ้นอยู่กับพันธุ์ของโป๊ยเซียน บางพันธุ์ออกรากได้ง่ายอาจจะไม่ต้องใช้ฮอร์โมนเร่งรากช่วย เครื่องปลูกที่ใช้ในการปักชำจะประกอบด้วยทรายหยาบ ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว อย่างละ 1 ส่วน ผสมให้เข้ากันดี หรืออาจใช้ดินใบก้ามปูเป็นเครื่องปลูกก็ได้ ก่อนใช้ชำต้องทำให้เครื่องปลูกชุ่มชื้นโดยการรดน้ำพอหมาด แล้วจึงชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนลงไปให้ลึกประมาณ 2-3 นิ้ว รดน้ำอย่าให้แฉะเกินไปเพราะกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเน่าง่าย ประมาณ 2-4 สัปดาห์รากจะงอก เมื่อแข็งแรงดีจึงย้ายลงปลูกในดินผสมในกระถางใหญ่ต่อไป

2.4.3 การตอน

ต้นโป๊ยเซียนสามารถขยายพันธุ์โดยการตอนเหมือนกับพันธุ์ไม้ชนิดอื่น ๆ แต่วิธีการที่แตกต่างออกไปคือ ใช้มีดคม ๆ ตัดลำต้นครึ่งหนึ่ง แต่อย่าให้ขาด ใช้ไม้จิ้มฟันสอดเข้าไประหว่างรอยแผล รอให้แผลแห้ง แล้วหุ้มด้วยถุงพลาสติกที่บรรจุขุยมะพร้าวที่ชื้นเล็กน้อย ใช้เชือกมัดให้แน่นจะใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือนจึงจะออกรากสามารถตัดนำไปปลูกขยายพันธุ์ได้ ส่วนต้นตอสามารถแตกกิ่งได้ใหม่ วิธีนี้เหมาะกับการขยายพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนที่ลำต้นสูงมาก ๆ โดยไม่แตกกิ่ง

2.4.4 การเสียบกิ่ง

ในอดีตการปักชำกิ่งเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน จนมีเกษตรกรชื่อนายประเสริฐ พุ่มแก้ว เป็นผู้ทดลองนำต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ดีมาเสียบกิ่งบนต้นต่อพันธุ์แดงอุดม นับเป็นจุดสำคัญที่ทำให้การขยายพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพัฒนาไปสู่เสียบกิ่งอย่างกว้างขวางจนทุกวันนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้นำไปใช้เพื่อการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ปลายปีก. 2538) ซึ่งการเสียบกิ่งสามารถใช้กิ่งของต้นโป๊ยเซียนพันธุ์หนึ่งไปเสียบกิ่งกับพันธุ์อื่น ๆ ที่มีสีดอกแตกต่างกันออกไปหรือจะใช้ต้นตอเป็นพืชในสกุล *Euphorbia* ด้วยกันแต่ต่างชนิดกันได้ พันธุ์ที่นิยมใช้เป็นต้นต่อมากที่สุดคือ พันธุ์แดงอุดม (ประเสริฐ. 2537 ; ปัญญา. 2540ข) เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่หาอาหารเก่ง ต้านทานโรคได้ดี และเนื้อเยื่อรอยแผลที่เสียบกิ่งเจริญติดง่ายกว่าพันธุ์อื่น (ปลายปีก. 2538) การเสียบกิ่งทำได้โดยใช้มีดคม ๆ ตัดลำต้นของต้นโป๊ยเซียนที่จะใช้เป็นต้นตอสูงจากระดับดิน 1.5-2 นิ้ว ใช้มีดผ่ากลางลำต้น หรือเฉือนเนื้อลำต้นด้านบนออกเป็นรูปตัว วี ตัดกิ่งพันธุ์ดีที่จะเสียบให้เป็นรูปลิ่มแล้วเสียบลงบนต้นตอ ใช้เชือกฟางมัดต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีให้แน่นให้รอยแผลติดกันสนิท เก็บในตู้อบรักษาความชื้นหรือใช้ถุงพลาสติกแทนก็ได้ ประมาณ 7 วันแผลก็จะเชื่อมกันสนิท จึงนำออกจากตู้อบและพักฟื้นในที่มีแสงแดดรำไร เมื่อต้นโป๊ยเซียนแข็งแรงดีจึงย้ายไปปลูกเลี้ยงในโรงเรือนปกติ ประมาณ 1-2 เดือนจึงแก้เชือกฟางออก

2.5 ศัตรูพืชของต้นโป๊ยเซียน

โป๊ยเซียนเป็นพืชที่มียางสีขาวคล้ายน้ำนมซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์ ดังนั้นจึงไม่ค่อยพบแมลงรบกวนหรือทำลายเหมือนพืชอื่น ๆ (อรดี. 2534) จนเกือบจะเรียกได้ว่าทนมากกว่าบรรดาไม้ดอกไม้ประดับทั่วไป (ประเสริฐ. 2537) ในการปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนจึงพบปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูน้อย แต่ในระยะหลังที่มีผู้นิยมเพาะเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นจำนวนมาก กลับพบว่ามีโรคและแมลงรบกวนหรือทำลายต้นโป๊ยเซียนอยู่เสมอ การปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนในปัจจุบันที่ได้ทวีจำนวนมากขึ้นและปลูกเลี้ยงในสวนขนาดใหญ่เพื่อผลิตเป็นการเชิงค้า สนองความต้องการของตลาดที่เพิ่มมากขึ้นขณะเดียวกันปัญหาอันเนื่องมาจากศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องจากศัตรูพืชเหล่านี้มีแหล่งอาหารอย่างอุดมสมบูรณ์และต่อเนื่อง อีกทั้งการปฏิบัติดูแลรักษาของเกษตรกรบางครั้งเป็นไปอย่างไม่ทั่วถึง จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ศัตรูต้นโป๊ยเซียนสามารถแพร่พันธุ์เพิ่มปริมาณทำความเสียหายกับต้นโป๊ยเซียนขึ้นมาได้ (ไสว. 2538)

2.5.1 แมลงศัตรูพืชของต้นโป๊ยเซียน

แมลงศัตรูพืชที่พบว่าเป็นปัญหาในการปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ขาว หนอนคืบ หรือหนอนคืบละหุ่ง และเพลี้ยไฟ เป็นต้น (ปัญญา. 2540ค ; ไสว. 2538) การป้องกันกำจัด ควรมีการกำจัดวัชพืชในสวนปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนซึ่งเป็นแหล่งอาหารของแมลงศัตรูพืชเหล่านี้ เพื่อเป็นการช่วยลดปริมาณแมลงศัตรูพืชที่จะเคลื่อนย้ายมายังต้นโป๊ยเซียน ถ้าพบแมลงศัตรูพืชเหล่านี้แพร่ระบาดไม่มากควรใช้มือจับบี้ทำลาย การใช้ยาฆ่าแมลงอาจเป็นอันตรายต่อแมลงที่มาช่วยผสมพันธุ์ได้ แต่ถ้าพบการแพร่ระบาดมาก ๆ อาจใช้วิธีฉีดพ่นด้วยสารเคมีกำจัดแมลงที่มีจำหน่ายในท้องตลาดทั่ว ๆ ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 โรคของต้นโป๊ยเซียน

โป๊ยเซียนมีปัญหาเรื่องโรคพืชอยู่ไม่กี่ชนิด แต่มักสร้างความเสียหายอย่างมากทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณโดยเฉพาะช่วงฤดูฝนจะพบการระบาดของโรคมาก โรคพืชที่เป็นศัตรุของต้นโป๊ยเซียนที่มีความสำคัญและพบเสมอ คือ โรคต้นเน่า โรคใบจุด และไส้เดือนฝอย โดยพบว่าโรคต้นเน่าเป็นโรคที่สร้างปัญหามากที่สุด (ปัญญา. 2540ง) ดีพร้อม (2539) ที่รายงานว่าโรคเน่าในโป๊ยเซียนโดยเฉพาะโรครากเน่า-โคนเน่าเป็นปัญหาที่พบบ่อยในการปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนในช่วงฤดูฝน ประเสริฐ (2537) ระบุว่าโรคเน่าของต้นโป๊ยเซียนมีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย แตกต่างกับ ดีพร้อม (2539) ที่กล่าวว่าโรคเน่าของโป๊ยเซียนมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Botrytis* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp. และเชื้อราอื่น ๆ ที่เป็นสาเหตุโรคเน่า

มีการรายงานถึงเชื้อสาเหตุก่อโรคต่าง ๆ ในพืชสกุล *Euphorbia* ซึ่งเป็นสกุลเดียวกับต้นโป๊ยเซียนที่มีรายงานในประเทศไทยไว้ดังนี้ โรคราสนิมในต้นน้ำนมราชสีห์เกิดจากเชื้อ *Uromyces* sp. (นิรนาม. 2505) โรคใบจุดในต้นน้ำนมราชสีห์จากเชื้อ *Corynespora cassiicola* (พัฒนา และคณะ. 2534) โรคราแป้งในต้นหญ้ายาง เกิดจากเชื้อ *Oidiopsis* sp. โรคใบจุดในต้นคริสต์มาสเกิดจากเชื้อ *Cercospora pulcherrimae* และ *Corynespora cassiicola* และโรคใบไหม้ในต้นคริสต์มาสเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. (พัฒนา และคณะ. 2534)

2.6 หลักการควบคุมโรคพืช

การควบคุมโรคพืชโดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์เพื่อหยุดการทำลายของเชื้อโรคบนพืชอาศัย โดยการยับยั้งกิจกรรม การเจริญ การเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืช หรือทำลายความมีชีวิตของเชื้อสาเหตุโรคพืชลงจนปริมาณอยู่ในระดับที่ไม่สามารถทำอันตรายให้พืชอาศัยเกิดความเสียหายได้ (จิระเดช. 2538ค) ไพโรจน์ (2525) ได้ให้คำจำกัดความการควบคุมโรคพืชคือ การกระทำใด ๆ ก็ตามที่สามารถลดความรุนแรงของโรคเพื่อลดความสูญเสียที่เกิดจากโรค การควบคุมโรคพืชมีด้วยกันหลายวิธี เช่นการใช้พันธุ์ต้านทานโรค การใช้สารเคมีฉีดพ่น การใช้วิธีเขตกรรม และการควบคุมโดยชีววิธี เป็นต้น โดยแต่ละวิธีมีหลักการ แนวคิด และรายละเอียดที่แตกต่างกันออกไป เช่นการใช้พันธุ์ต้านทานโรค มุ่งเน้นหลักการที่เกี่ยวข้องกับเรื่องพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานโรคของพืช การใช้สารเคมีควบคุมโรค มุ่งเน้นเรื่องการออกฤทธิ์ของสารเคมี ทั้งประเภทดูดซึมและสัมผัสในการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช การควบคุมโรคโดยเขตกรรม มุ่งเน้นวิธีการปรับสภาพเพื่อให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณเชื้อสาเหตุโรคพืชลดลง วิธีการทางเขตกรรมที่สำคัญได้แก่ การปรับปรุงแร่ธาตุอาหารด้วยการใส่ปุ๋ยอย่างถูกต้องเหมาะสมกับความต้องการของพืช เพื่อให้พืชมีความแข็งแรงสามารถต้านทานโรคได้ การปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของดิน เพื่อให้แร่ธาตุในดินอยู่ในรูปที่เกิดประโยชน์ต่อพืช การปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชหมุนเวียน เพื่อลดแหล่งอาหารของเชื้อสาเหตุโรคพืช การให้น้ำและการเตรียมดินอย่างถูกต้องเหมาะสมเพื่อลดการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช (จิระเดช. 2538ค)

2.7 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control หรือ Biocontrol)

การเพาะปลูกพืชส่วนใหญ่ มุ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณ จึงมีการนำสารเคมีมาใช้ในการเพาะปลูก เนื่องจากสารเคมีมีข้อดีคือ ออกฤทธิ์รวดเร็วมีประสิทธิภาพแน่นอนและเห็นผลชัดเจน สะดวกในการจัดซื้อ การใช้ และการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม ข้อเสียบางประการของการใช้สารเคมีก็คือ ต้องใช้ประจำและต่อเนื่องทำให้ค่าใช้จ่ายสูง และบางกรณีใช้ไประยะหนึ่งเกิดการดื้อยาของเชื้อ ทำให้ต้องเพิ่มอัตราการใช้สารเคมี หรือเปลี่ยนชนิดของสารเคมีควบคุมโรคของพืชแล้ว ปัญหาของโรคพืชไม่ได้ลดลงเท่าที่ควร หรือโรคพืชบางชนิดไม่สามารถใช้สารเคมีควบคุมได้ หรืออาจควบคุมได้บ้างแต่ไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ นอกจากนี้การใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชในปริมาณมากและต่อเนื่อง มักทำให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อม เกิดสารพิษตกค้างในดิน ในน้ำ แม้กระทั่งแหล่งน้ำใต้ดิน ส่งผลทำให้ผลิตผลทางการเกษตรทั้งจากพืชและสัตว์มีสารพิษตกค้างไปด้วย ตลอดจนทำให้สมดุลของจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดินตามธรรมชาติเสียไป ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ลดลง จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ดังกล่าวได้แก่ จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ ซึ่งช่วยทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุในธรรมชาติ บางชนิดช่วยตรึงแร่ธาตุจากดิน น้ำ และอากาศ ซึ่งมีประโยชน์โดยตรงต่อพืช รวมทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูหรือเป็นปฏิปักษ์ต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืช การลดลงของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) เป็นสาเหตุให้เชื้อสาเหตุโรคพืชเพิ่มจำนวนและเกิดการระบาดของโรคได้มากยิ่งขึ้น (จิระเดช. 2538ง) ทำให้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจจากนักวิชาการ แม้ว่ามีการศึกษาวิจัยมาเป็นเวลานานหลายสิบปีแล้ว แต่ได้รับความสนใจอย่างจริงจังในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา เนื่องจากกระแสการรณรงค์ให้รักษาสภาพแวดล้อมที่กำลังมาแรง และปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปใช้เป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรคเนื่องจากมีการนำไปใช้อย่างได้ผลดี และจะมีบทบาทที่สำคัญมากในศตวรรษที่ 21 (Cook. 2538) การควบคุมโดยชีววิธีหมายถึง การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ตลอดจนสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก พันธุกรรม (genes) และผลผลิตจากพันธุกรรม (gene products) ในการลดปริมาณและลดกิจกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชลงจนทำให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (จิระเดช. 2538ง) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นวิธีการอย่างหนึ่งในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (integrated pest management) ซึ่งเป็นวิธีการจัดการศัตรูพืชแนวทางหนึ่งที่ประเทศไทยกำลังส่งเสริมให้มีการใช้มากขึ้น เนื่องจากการนำไปปฏิบัติเป็นไปอย่างได้ผล ช่วยลดการใช้สารเคมีลงอย่างมีนัยสำคัญ (สมคิด. 2538ก) การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน คือการใช้วิธีที่ให้ผลดีสูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ ความปลอดภัย และความยั่งยืน ซึ่งเป็นการรวมเอาวิธีทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ เข้าไว้ด้วยกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อควบคุมผลที่เกิดจากศัตรูพืช และส่งเสริมปริมาณผลผลิตและคุณภาพของผลลิตจากพืชและสัตว์ (Cook. 2538) เนื่องจากประเทศไทยเราเป็นประเทศเกษตรกรรม มีนักวิจัยในประเทศจำนวนมากที่ได้ให้ความสนใจในการทำวิจัยเรื่องเกี่ยวข้องกับการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี เช่นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ในป้องกันกำจัดโรคพืช (จิระเดช. 2538จ ; จิระเดช และบรรเจิด. 2529 ; จิระเดช และวรรณวิไล. 2534 ; องอาจ และคณะ. 2534 ; จิระเดช และคณะ. 2536 ; สุธามาศ และคณะ. 2537 ; สุภาพร และคณะ. 2537 ; บรรเจิด และจิระเดช. 2529) การใช้เชื้อรา *Chaetomium* ในการป้องกันกำจัดโรคพืช (เกษม. 2532ก, 2534 ; เกษม และชลฎา 2536) การใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ในการป้องกันกำจัดโรคพืช (ช่อทิพย์. 2538 ; นิพนธ์. 2538 ; มณจันทร์ และชัยวัฒน์. 2537 ; มานะ และคณะ. 2536 ; ปริญญา และคณะ. 2533 ; สุภกิจ. 2536 ; อุรัจฉทา และคณะ. 2535) การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช (วัชรี. 2538 ; วัชรี และพิมลพร. 2535) การใช้เชื้อไวรัสควบคุมแมลงศัตรูพืช (อุทัย. 2538) การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* กำจัดหนอนแมลงศัตรูพืช (จริยา. 2538 ; อัจฉรา. 2538) การใช้เชื้อราควบคุมไส้เดือนฝอยที่ก่อโรค (Sukjaimit and Sonthirut. 1988) และการใช้เชื้อรา *Aphanomyces* ควบคุมผักตบชวา (สัมฤทธิ์ และคณะ. 2542) เป็นต้น การพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ภายในประเทศเพื่อใช้ควบคุมศัตรูพืชเองมีข้อดีกว่าการนำเชื้อจุลินทรีย์จากต่างประเทศมาใช้ควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากจุลินทรีย์จากต่างประเทศอาจก่อให้เกิดอันตรายกับจุลินทรีย์ธรรมชาติในบ้านเราเอง และอาจไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมของประเทศเราได้เช่นอุณหภูมิที่สูง จึงต้องระมัดระวังในการนำสารชีวภัณฑ์จากต่างประเทศเข้ามาใช้ควบคุมศัตรูพืช (เปรมปรี. 2538)

2.8 กลไกการควบคุมโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

โดยปกติจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติจะมีปฏิกิริยาต่อกันและกัน ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านั้นนั่นเอง Singh and Faull (1988) ได้แบ่งกลุ่มกลไกการควบคุมโรคของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไว้ 3 ลักษณะคือ 1) การแข่งขัน (competition) เพื่อแย่งแหล่งอาหารและที่อยู่อาศัย 2) การเป็นไมโคพาราสิต (mycoparasitism) หรือไฮเปอร์พาราสิต (hyperparasitism) โดยราชนิดหนึ่งสามารถเป็นปรสิตของราอีกชนิดหนึ่งได้ และ 3) การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) ซึ่งมี 2 ชนิด คือชนิดที่ระเหยได้ (volatile antibiotic) และชนิดที่ระเหยไม่ได้ (nonvolatile antibiotic) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อาจใช้กลไกอย่างใดอย่างหนึ่งในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช หรือใช้หลายกลไกในการทำงานร่วมกัน

2.8.1 การแข่งขัน (competition)

เป็นลักษณะที่เกิดขึ้นเมื่อเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดหรือมากกว่า มีความต้องการในแหล่งที่จะมาสนับสนุนในการดำรงชีพจากแหล่งเดียวกัน แหล่งที่จะมาสนับสนุนในการดำรงชีพหมายถึง สารอาหาร อากาศ และพื้นที่อาศัย เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยในบริเวณเดียวกันในระบบนิเวศน์โดยปกติมักจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลีกเลี่ยงการแข่งขันกัน โดยการครอบครองบริเวณพื้นผิวดินหรือความลึกในดินที่แตกต่างกัน เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะมีความสามารถแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืชในด้านต่าง ๆ ได้ดี เช่นในด้านการใช้สารอาหาร การใช้อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโต หรืออาศัยในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ พืชจึงเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น

2.8.2 การเป็นไมโคพาราสิต (mycoparasitism)

สามารถเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ไฮเปอร์พาราสิต (hyperparasitism) เป็นปรากฏการณ์ที่เชื้อราชนิดหนึ่งเป็นปรสิตของเชื้อราอีกชนิด โดยการเจริญของเส้นใยเชื้อราชนิดหนึ่งปกคลุมและเจาะทะลุเส้นใยราของเชื้อราอีกชนิด ด้วยเส้นใยพิเศษที่เรียกว่า haustoria และย่อยสลายเส้นใยราชนิดนั้นเป็นอาหาร อาจแบ่งปฏิกิริยาไมโคพาราสิต ออกเป็น 2 ชนิด คือ biotrophic และ necrotrophic โดยพิจารณาจากรูปแบบของปฏิกิริยาการเป็นปรสิตของมันต่อเชื้อราที่เป็น host การเป็นปรสิตชนิด biotrophic นั้น คือการได้มาของสารอาหารจากเซลล์ที่มีชีวิตของ host โดยผ่านทาง haustoria ส่วนปรสิตชนิด necrotrophic นั้นคือการทำลายหรือย่อยสลายเซลล์ของ host ให้ตายลงด้วยสารพิษหรือ extracellular enzyme ที่สร้างขึ้นก่อนนำไปให้เป็นแหล่งอาหาร

2.8.3 การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis)

เป็นลักษณะที่เชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะหรือสารที่ได้จากการเมแทบอลิซึมที่ไปมีพิษโดยตรงต่อจุลินทรีย์อีกชนิด ซึ่งสารปฏิชีวนะที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ผลิตขึ้นมานั้นอาจจะเป็นสารที่ระเหยได้หรืออาจจะเป็นสารที่ไม่ระเหยก็ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ ในการผลิตสารปฏิชีวนะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต้องการสารอินทรีย์ที่พอเพียงที่จะใช้เป็นแหล่งอาหาร สารอินทรีย์ที่ว่านี้ในธรรมชาติอาจจะเป็น ฟาง เปลือกหุ้มเมล็ดในดิน หรือละอองเกสรบนผิวใบก็ได้ การตรวจหาและสกัดสารปฏิชีวนะโดยตรงจากดิน บริเวณรากพืช หรือบริเวณผิวใบทำได้ยาก เนื่องจากสารดังกล่าวจะถูกดูดซับด้วยอนุภาคของดินเหนียวและฮิวมัสในดิน หรืออาจจะสูญเสียไปในบรรยากาศในบริเวณผิวใบโดยการระเหย และในธรรมชาติก็มีการย่อยสลายของสารปฏิชีวนะดังกล่าวโดยจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สารเหล่านั้นไม่มีผลต่อมัน

2.9 ชีวภัณฑ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืช

ปัจจุบันกระแสการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมกำลังได้รับความสนใจอย่างมากทั้งในและต่างประเทศ โดยมีการรณรงค์ ให้ลด ละ เลิก การใช้สารเคมีทางการเกษตรที่เป็นสาเหตุการตกค้างของสารพิษในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงได้รับความสนใจอย่างมาก ในแง่ของการทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชที่มีปัญหาเหล่านั้น มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่ได้รับการพัฒนาขึ้นจนผลิตเป็นเชิงการค้าในประเทศต่าง ๆ เพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืช ดังตารางที่ 2.1 เป็นชีวภัณฑ์ที่ใช้ในสหรัฐอเมริกา และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ชีวภัณฑ์ควบคุมเชื้อสาเหตุก่อโรคพืชที่รับรองโดยองค์กรอนุรักษ์สภาพแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา

ชีวภัณฑ์/จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ควบคุมเชื้อโรค/พืช	บริษัทผู้ผลิต(ประเทศ)
BINAB-T,W *Trichoderma* spp.	*Verticillium malthousel* / เห็ด	Binab USA (USA)
F-Stop *Trichoderma harzianum*	*Pythium ultimum,* *Rhizoctonia solani,* *Fusarium* sp. / คลุกเมล็ดพืชที่ปลูกเป็นแถว	TGT, Inc. (USA)
GlioGard *Gliocladium virens*	*Rhizoctonia solani,* *Pythium ultimum* / พืชในแปลงเพาะกล้า	W.R. Grace & Co. (USA)
Blue Circle *Pseudomonas cepacia*	*Rhizoctonia solani,* *Pythium* spp. / คลุกเมล็ดพืชผัก	Stine Microbial (USA)
Dagger G *Pseudomonas fluorescens*	*Pythium ultimum* , *Rhizoctonia solani* / คลุกเมล็ดฝ้าย	Ecogen Inc. (USA)
VICTUS *Pseudomonas fluorescens*	*Pseudomonas tolasii* / เห็ด	Sylvan (USA)
Epic *Bacillus subtilis*	*Rhizoctonia solani* , *Fusarium* sp. / ฝ้าย, ถั่วต่าง ๆ	Gustafon, Inc. (USA)
Kodiak *Bacillus subtilis*	*Pythium ultimum,* *Rhizoctonia solani* / คลุกเมล็ดฝ้ายและถั่ว	Gustafon, Inc. (USA)
Galltrol, Norbac 84-C *Agrobacterium radiobactor*	*Agrobacterium tumefaciens* / จุ่มรากไม้ยืนต้น, ไม้พุ่ม	AgBioChem, Inc. (USA)
Mycostop *Streptomyces griseovirides*	*Alternaria* spp., *Fusarium* spp. / พืชผัก, ไม้ดอกไม้ประดับ	Kemira Biotech. (Finland)

ที่มา : จิระเดช (2538ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 เป็นชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma* ที่ผลิตและใช้ในประเทศอื่น ๆ ในประเทศไทยมีการวิจัยและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์พันธุ์ในประเทศขึ้นมาเพื่อใช้ควบคุมโรคพืชภายในประเทศดังแสดงในตารางที่ 2.3 และพัฒนาจนสามารถผลิตเป็นเชิงการค้าได้สำเร็จแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือเชื้อราและแบคทีเรีย

2.9.1 ชีวภัณฑ์ที่เป็นเชื้อรา

กลุ่มเชื้อราที่นิยมคัดเลือกมาสำหรับผลิตชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชได้แก่เชื้อรา *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. และ *Chaetomium* sp.โดยเชื้อรา *Trichoderma* ได้รับความสนใจมากที่สุด (จิระเดช. 2538ก) ซึ่งชีวภัณฑ์ที่มีการผลิตเป็นเชิงการค้าในประเทศได้แก่ เชื้อรา *T. harzianum* (จิระเดช และชูชาติ. 2538 ; นิรนาม. 2534) เชื้อรา *C. cupreum* และ เชื้อรา *C. globosum* (เกษม. 2537 ; เปรมปรี. 2537)

2.9.2 ชีวภัณฑ์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย

ชีวภัณฑ์ในกลุ่มแบคทีเรียที่มีการผลิตเพื่อควบคุมโรคพืช คือ *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Streptomyces* sp. (จิระเดช. 2538ก) ซึ่งชีวภัณฑ์ที่มีการผลิตเป็นเชิงการค้าในประเทศได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* (เปรมปรี. 2537)

2.10 การควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราชั้นสูงชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในดินและบนเศษซากอินทรีย์วัตถุตามธรรมชาติ สามารถเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วสร้างสปอร์ได้ในปริมาณสูงมาก ดำรงชีวิตเป็นผู้ย่อยสลาย โดยอาศัยเศษซากอินทรีย์วัตถุที่กำลังย่อยสลายเป็นแหล่งพลังงาน โดยไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืชที่มีชีวิตอยู่ เชื้อรา *Trichoderma* spp. จึงมีความสามารถในการแข่งขัน (competition) กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชในด้านการใช้อาหารและสารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยมีผลทำให้ปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคลดจำนวนลงได้ (จิระเดช. 2538จ) นับว่าเป็นกลไกในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญประการหนึ่ง นอกจากนี้เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถรบกวนการเจริญของเส้นใย (hyphal interference) เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเจริญไปขนานเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เกิดการพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยเสียรูปทรงและมีลักษณะที่ผิดปกติ เกิดการเบียดบังการดูดซึมผ่านของสารอาหารของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ส่งเสริมให้การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชดียิ่งขึ้น (ดีพร้อม. 2539) บางชนิดสามารถดำรงเป็นทั้งผู้ย่อยสลายและเป็นปรสิต (parasitism) โดยตรงต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยการพันรัดเส้นใยแล้วสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเส้นใยราสาเหตุโรค เช่น ไคติเนส (chitinase), เบต้า -1,3- กลูคาเนส (β -1,3-glucanase) และเซลลูเลส (cellulase) จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma* ที่ผลิตในประเทศต่าง (ไม่ได้ใช้ในสหรัฐอเมริกา)

ชีวภัณฑ์/จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เชื้อโรค/พืช	บริษัทผู้ผลิต (ประเทศ)
ANTI-FGGUS *Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. / พืชในแปลงเพาะกล้า	Grondontsmettingham De Ceuster (เบลเยียม)
Promot *Trichoderma* spp.	เชื้อราต่าง ๆ / ผลไม้, ผัก	J.H. Biotech, Inc. (สหรัฐอเมริกา)
Supravit *Trichoderma harzianum*	เชื้อราต่าง ๆ	Bonegaard & Reitzel (เดนมาร์ค)
T-35 *Trichoderma harzianum*	*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. / แตงกวา, มะเขือเทศ	Makhteshim (อิสราเอล)
Trichodermin-3 *Trichoderma lignorum*	*Fusarium* sp. / พืชไร่, ผัก	(รัสเซีย, บุลกาเรีย)
Trichodex *Trichoderma harzianum*	*Botrytis cinerea* / ผลไม้, ไม้ดอกไม้ประดับ	Makhteshim (อิสราเอล)
Trichopel *Trichoderma* spp.	เชื้อราต่าง ๆ	Agrim Biologicals (นิวซีแลนด์)
TY *Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp., *Sclerotium rolfsii* / พืชไร่, ผัก	Mycontrol (อิสราเอล)

ที่มา : จิระเดช (2538ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืชชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	โรครากเน่า-โคนเน่า Phytophthora	แอนแทร็กโนส Anthracnose	แคงเกอร์ Canker	โรคเหี่ยวเฉา Fusarium wilt	โรคเหี่ยว-เน่า Bacterial wilt	โรคกาบใบแห้ง Shealth blight	โรคไหม้ Blast	ไส้เดือนฝอย Nematode	โรคโคนเน่า Soft rot
Trichoderma	√			√	√				√
Chaetomium	√	√		√	√				√
Bacillus subtilis	√		√			√	√		
Gliocladium virens					√				
Pseudomonas fluorescens						√	√		
Actinomycetes							√		
Paecilomyces lilicinus								√	
	Citrus Durian Pepper Rubber Tomato Potato	Mango Chilli Onion	Citrus	Chilli Eggplant Cucurbits	Chilli Eggplant Cucurbits	Rice	Rice	Pepper	Vegetable Potato

ที่มา : สมคิด (2538ข)

37667

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อยู่ภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีผลทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชอ่อนแอและตายลง (จิระเดช. 2538จ) ขณะที่บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ออกมาเพื่อยับยั้งหรือทำลาย (lysis) เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (จิระเดช. 2538จ) จากกลไกการเข้าทำลายและกระบวนการต่าง ๆ ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. เหล่านี้มีผลทำให้เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้เป็นอย่างดีทำให้การขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชลดลงไปเรื่อย ๆ และลดลงจนอยู่ในปริมาณที่ไม่สามารถสร้างความเสียหายกับพืชได้ หรือสร้างความเสียหายบ้าง แต่อยู่ระดับที่ยอมรับได้

2.11 ต้นโป๊ยเซียนกับการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีทางชีวภาพ

อุไร (2540) ได้แนะนำให้ใช้วิธีทางชีวภาพในการปลูกเลี้ยงและการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของโป๊ยเซียนโดยแนะนำการใช้จุลินทรีย์ EM (effective microorganism) ในการปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเพื่อเพิ่มผลผลิต แนะนำการใช้สารสกัดสมุนไพรเช่น สะเดา เพื่อกำจัดและขับไล่แมลงศัตรูพืช และแนะนำการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ในการป้องกันกำจัดโรคพืชของต้นโป๊ยเซียน ซึ่งชีวภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีทั้งแบบเป็นผงแห้งและสปอร์อัดเป็นเม็ดได้แก่ ไตซาน (Trisan) ไตรโคเดอร์มา (Trichoderma) ไตรโคเดอร์มาพลัส (Trichoderma Plus) บีโอเมท (Beomate) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเชื้อสดที่เพาะบนเมล็ดข้าวฟ่างในถุงพลาสติกที่ผลิตโดย กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์อีกด้วย ดีพร้อม (2539) แนะนำให้ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือแอนทาโกนิสต์ *ไตรโคเดอร์มา ฮาเซียนั่ม* 1®, ซุปเปอร์ *คีโตเมี่ยม*® และ *บาซิลัส ซับติลิส* เอสพี .001® ร่วมกับการฉีดพ่น ฟอสฟอรัส เอซิด ที่มีชื่อการค้า โฟลิ-อาร์-ฟอส 400® เพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดภูมิคุ้มกันในการป้องกันกำจัดโรคเน่าของโป๊ยเซียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.1 การสำรวจลักษณะอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

ทำการสำรวจโรคของต้นโป๊ยเซียนจากแหล่งปลูกเลี้ยงเชิงการค้าของเกษตรกรจำนวน 4 แหล่ง ซึ่งประกอบด้วยกรุงเทพมหานคร 3 แหล่งและจังหวัดปราจีนบุรีอีก 1 แหล่ง ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2540 ซึ่งเป็นช่วงที่มีฤดูฝน มีการระบาดของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่ามาก โดยเก็บตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการเป็นโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า นำมาศึกษาลักษณะอาการของโรคภายนอก ทำการบันทึกอาการที่ปรากฏ จากนั้นใช้ใบมีดโกนที่ฆ่าเชื้อแล้วผ่าลำต้นโป๊ยเซียนตามความยาวของลำต้น สังเกตลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค ดมกลิ่น และสังเกตสีของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย ทำการบันทึกภาพแล้วแยกเชื้อสาเหตุโรคให้บริสุทธิ์ต่อไป

3.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนให้บริสุทธิ์

นำตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการของโรคโคนเน่าและรากเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุโรคให้บริสุทธิ์ โดยใช้มีดโกนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วผ่าลำต้นตามความยาวของลำต้น แล้วตัดลำต้นโป๊ยเซียนบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อที่ถูกเชื้อโรคทำลายกับเนื้อเยื่อปกติ นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี tissue transplanting ด้วยการตัดหนามและผิวเปลือกลำต้นออก จากนั้นตัดเนื้อเยื่อลำต้นให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 3 x 3 x 10 มิลลิเมตร แล้วนำชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้ไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ (clorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้าง 2 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วหรือล้างจนหมดกลิ่น ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงนำไปวางไว้ได้อาหาร water agar (WA) 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก.) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญเป็นโคโลนีใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เผาไฟและทิ้งไว้ให้เย็นแล้วตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี นำไปเลี้ยงบนอาหาร carrot agar (CA) (ภาคผนวก ก.) ในหลอดทดลองเพื่อศึกษาต่อไป

3.3 การจำแนกสกุล (genus) เชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

นำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้จากข้อ 3.2 มาศึกษาลักษณะของเชื้อเบื้องต้น โดยเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้บนอาหารแข็ง CA ในจานเพาะเชื้อ และในน้ำที่มีเมล็ดข้าวฟ่างเป็นเหยื่อล่อ (baiting) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน ตรวจดูรูปร่าง ลักษณะ สี และการจัดเรียงตัวของโคโลนี เส้นใย สปอร์ และลักษณะอื่น ๆ ของเชื้อสาเหตุโรคขณะเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของเชื้อสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อไป โดยการตัดเส้นใย มาทำสไลด์ ย้อมด้วยสี lactophenol-acid fuchsin (Dhingra and Sinclair. 1987) ดังภาคผนวก ข.

3.4 การพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

3.4.1 การปลูกเชื้อด้วย mycelial disc โดยทำแผลที่ลำต้น

เตรียม mycelial disc ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ โดยเลี้ยงบนอาหาร CA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร จุ่มแอลกอฮอล์เผาไฟฆ่าเชื้อและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี นำมาปลูกเชื้อที่ลำต้นของต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม โดยการทำแผลที่หนามบริเวณลำต้นด้วยมีดฆ่าเชื้อเหนือระดับดินประมาณ 1.5 นิ้ว จากนั้นนำ mycelial disc ที่เตรียมไว้ใส่ลงที่แผล แล้วใช้สำลีสะอาดปิดทับ และพันด้วยเทปใสปิดทับสำลีอีกชั้นหนึ่ง สังเกตและบันทึกอาการหลังปลูกเชื้อทุก ๆ วันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการแยกเชื้อซ้ำ (reisolate) ให้บริสุทธิ์ จากลำต้นบริเวณรอยต่อของแผลกับเนื้อเยื่อปกติของต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการหลังการปลูกเชื้อ เปรียบเทียบลักษณะกับเชื้อที่ใช้ปลูกเชื้อ

3.4.2 การปลูกเชื้อในน้ำเพื่อให้เชื้อรา *Phytophthora* sp. สร้าง zoospore ว่ายน้ำไปเข้าทำลายต้นโป๊ยเซียน

เตรียม mycelial disc เชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ โดยที่มีวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1 ใส่ mycelial disc จำนวน 3 ชิ้น ลงในขวดน้ำกลั่นที่มีน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมที่มีการเตรียมให้รากงอกก่อนนำมาทดสอบ ด้วยการแช่น้ำเป็นเวลาประมาณ 4-5 สัปดาห์ จนรากงอกแล้วนำมาแช่น้ำกลั่นที่มี mycelial disc มีการให้แสงต้นโป๊ยเซียนสลับมืดทุก ๆ 12 ชม. สังเกตอาการของต้นโป๊ยเซียนหลังปลูกเชื้อ เมื่อต้นโป๊ยเซียนแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า ตัดรากมาย้อมสี lactophenol-acid fuchsin แล้วตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ นำลำต้นของต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการไปทำการแยกเชื้อซ้ำเปรียบเทียบลักษณะกับเชื้อที่ใช้ปลูกเชื้อ

3.5 การจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

3.5.1 การศึกษารูปแบบการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

ปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้โดยการเตรียม mycelial disc เช่นเดียวกับข้อ 3.4.1 ลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) (ภาคผนวก ก.) และ CA ในจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิห้อง ตรวจดูลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใยที่เจริญหลังจากปลูกเชื้อจนเชื้อเจริญเต็มจานเพาะเชื้อ

3.5.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

ศึกษาการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. บนอาหาร CA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 15, 25, และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อและบันทึกผล

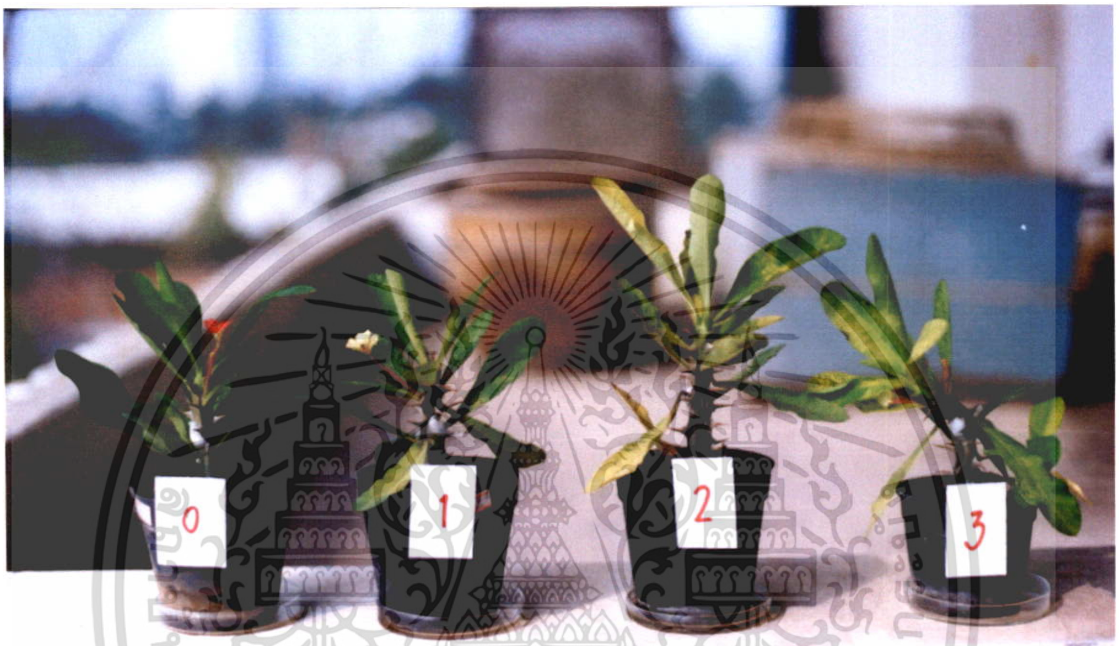
3.5.3 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

นำเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้มาศึกษาการสร้าง zoosporangium การปล่อย zoospore โดยตัดชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเส้นใยรา *Phytophthora* sp. มาใส่จานเพาะเชื้อที่มีน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใช้เมล็ดข้าวฟ่างต้มสุกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วใส่ลงในจานเพาะเชื้อด้วย เพื่อเป็นเหยื่อล่อให้เชื้อรา *Phytophthora* sp. สร้าง zoosporangium และปล่อย zoospore ว่ายน้ำออกมาเจริญเป็นโคโลนีใหม่บนเมล็ดข้าวฟ่าง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน นำจานเพาะเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เจริญเป็นโคโลนีใหม่มาตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นตัดเส้นใยรา *Phytophthora* sp.ที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง มาทำสไลด์ ย้อมด้วยสี lactophenol-acid fuchsin ศึกษารูปร่างและลักษณะ วัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และศึกษาลักษณะสมบัติอื่น ๆ นำมาประกอบการพิจารณาจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าต้นโป๊ยเซียนต่อไป โดยเปรียบเทียบกับเอกสารที่ใช้จำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ของ Stamps *et al.* (1990)

3.6 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในการทำให้เกิดโรค

เตรียม mycelial disc และปลูกเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้เช่นเดียวกับข้อ 3.4.1 ลงบนต้นโป๊ยเซียนแดงอุดม (ไอโซเลทละ 3 ต้น) ควบคุมการให้แสงสลับมืดทุก 12 ชั่วโมง และมีการให้น้ำวันละครั้ง สังเกตและบันทึกอาการหลังปลูกเชื้อ 48 ชม. จากนั้นนำต้นที่แสดงอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่ามาแยกเชื้อซ้ำ เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อที่แยกได้กับเชื้อที่ปลูก ให้คะแนนความรุนแรงจากอาการเหี่ยวซีดเหลืองของต้นโป๊ยเซียนที่ใช้ทดสอบตามอาการของโรค (ภาพที่ 3.1) แล้วคัดเลือกเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ไอโซเลทที่มีค่าเฉลี่ยคะแนนความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าสูงสุด 1 ไอโซเลท ซึ่งจะใช้เป็นตัวแทนของ *P. nicotianae* var. *parasitica* ในการทดสอบต่าง ๆ ในข้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 ลำดับคะแนนความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ต่อต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม

0 คะแนน = ต้นที่แสดงอาการปกติ

1 คะแนน = ต้นที่แสดงอาการใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดเล็กน้อย

2 คะแนน = ต้นที่แสดงอาการใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดมาก

3 คะแนน = ต้นที่แสดงอาการใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดมากและลำต้นเน่ายุบตัวจนล้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 การคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิดที่ต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

พืชสกุล *Euphorbia* รวมทั้งสิ้น 8 ชนิดที่ใช้เป็นพืชทดสอบประกอบไปด้วย 4 สปีชีส์ คือ ต้นส้มเช้า (*E. ligularia*) ต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ (*E. vigueri*) ต้นสลัดไดหรือต้นน้ำนมแอฟริกา (*E. trigona*) และต้นโป๊ยเซียน (*E. milii*) 5 พันธุ์ ได้แก่ แดงอุดม หนึ่งในจักรวาล ทรัพย์ประเสริฐ ดวงนฤมล และมหามงกุฎ

3.7.1 การทดสอบกับต้นพืชสกุล *Euphorbia* โดยปลูกเชื้อลงบนแผลที่ลำต้น

เตรียม mycelial disc ของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* และปลูกเชื้อลงบนต้นพืชทดสอบทั้ง 8 ชนิด ชนิดละ 5 ต้น ด้วยวิธีเดียวกันกับข้อ 3.4.1 ควบคุมการให้แสงสลับมืดทุก 12 ชั่วโมง และมีการให้น้ำวันละครั้ง สังเกตและบันทึกอาการของต้นพืชแต่ละชนิด จำนวนต้นที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าเป็นเวลา 7 วันหลังปลูกเชื้อ จากนั้นนำต้นพืชทดสอบที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่ามาแยกเชื้อซ้ำ เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อที่แยกได้กับเชื้อที่ปลูก

การเตรียมต้นพืชที่จะใช้ทดสอบ ทำได้โดยตัดกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* ทั้ง 8 ชนิดมาปักชำ โดยวัดขนาดจากยอดลงมา 5 นิ้ว จากนั้นจุ่มฮอร์โมนเร่งรากบิวตี้รูท® (IBA 30000 ppm) เล็กน้อย ทิ้งไว้ให้แห้งมาดประมาณ 15 นาทีก่อนปลูกลงดินใบก้ามปูในกระถางขนาด 4 นิ้ว ให้น้ำวันละ 1 ครั้ง ประมาณ 1 เดือนต้นพืชที่ใช้ทดสอบก็จะเริ่มออกราก เลี้ยงต่ออีก 2 สัปดาห์ต้นพืชจะแข็งแรงพร้อมที่จะนำมาทดสอบได้ในสัปดาห์ที่ 6

3.7.2 การทดสอบกับกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* โดยปลูกเชื้อลงบนแผลรอยตัด

เตรียมกิ่งพันธุ์ทดสอบทั้ง 8 ชนิด ชนิดละ 5 กิ่ง โดยใช้มีดที่คมตัดกิ่งพืชทดสอบ ให้แต่ละกิ่งมีความยาว 4 นิ้ว โดยวัดจากปลายยอด จากนั้นทำการปลูกเชื้อโดยวาง mycelial disc ของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่มีวิธีการเตรียมตามข้อ 3.4.1 ลงบนแผลที่ตัด นำกิ่งพันธุ์พืชทดสอบที่ปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้วไปบ่มเชื้อในกล่องเก็บความชื้นเป็นเวลา 1 วันจึงนำ mycelial disc ที่ปลูกไว้ออก บ่มกิ่งพันธุ์พืชทดสอบต่อในกล่องเก็บความชื้นเช่นเดิม สังเกตอาการหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน และนำกิ่งพันธุ์พืชทดสอบที่ถูกเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เข้าทำลายมาแยกเชื้อซ้ำ เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อที่แยกได้กับเชื้อที่ใช้ปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เก็บตัวอย่างดินปลูกบริเวณโคนต้นโป๊ยเซียนและรากของต้นโป๊ยเซียน จากแหล่งปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า 4 แหล่ง ซึ่งเป็นสวนเดียวกันกับที่สำรวจโรคไว้ในข้อ 3.1 มาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ตามวิธีการดังต่อไปนี้

3.8.1 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูก

โดยดัดแปลงวิธีมาจากวิธีของ Dhingra and Sinclair. (1987) โดยชั่งดินปลูกต้นโป๊ยเซียน 25 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 250 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่านาน 30 นาที ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที แล้วทำเจือจาง 10^{-3}-10^{-4} เท่า นำสารแขวนลอยดินที่เจือจางได้จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ไปหยดลงบนอาหาร Martin's medium (peptone dextrose rose-bengal agar) (Johnson and Curl. 1972) ดังภาคผนวก ก. แล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้า แล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-7 วัน เมื่อเชื้อราเจริญขึ้นเป็นโคโลนี คัดเลือกเชื้อราที่โคโลนีมีการเจริญรวดเร็ว โคโลนีมีสีขาว เขียวอมเหลือง ถึงเขียวเข้ม มีบริเวณที่สร้างสปอร์ (conidial area) เป็นรูปวงแหวน (ring-like zone) มาตรวจการสร้างสปอร์ conidia หรือ phialospore บน phialide ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จึงย้ายเชื้อราที่มีลักษณะดังกล่าวลงบนอาหาร PDA ในหลอดอาหารไว้ศึกษาต่อไป

3.8.2 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากผิวรากของต้นโป๊ยเซียน

นำรากต้นโป๊ยเซียนมาเคาะดินที่ติดมาให้หลุดออกให้เหลือดินติดรากเพียงเล็กน้อย จากนั้นล้างรากให้ดินหลุดจากราก นำรากไปบดให้ละเอียดแล้วทำเป็นสารแขวนลอยโดยใช้ อัตราส่วน ราก 1 กรัมต่อน้ำ 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำเจือจางและแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เช่นเดียวกับการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูก (สุภาพร. 2537)

3.9 การทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน

การทดสอบนี้เพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีคุณสมบัติไม่ก่อโรคหรือเข้าทำลายกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดม ซึ่งไอโซเลทที่คัดเลือกได้จะถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป โดยเตรียม mycelial disc ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้นำมาทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 3.1) ด้วยการเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี นำไปวางบนแผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมขนาดความยาว 4 นิ้ว ไอโซเลทละ 3 กิ่ง บ่มเชื้อไว้ในกล่องเก็บความชื้นนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำ mycelial disc ที่ใช้ปลูกเชื้อออก บ่มกิ่งพันธุ์ต่อในกล่องเก็บความชื้นต่อจนครบ 7 วัน ตรวจอาการของกิ่งพันธุ์และนำกิ่งพันธุ์ที่ถูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เข้าทำลายมาแยกเชื้อซ้ำเปรียบเทียบลักษณะกับเชื้อที่ใช้ปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แหล่งที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp.จำนวน 5 ไอโซเลทที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน

ลำดับ	แยกได้จาก	แหล่งที่มา	รหัสของไอโซเลท
1.	cotton duck shelter	Bangkok MIRCEN	TISTR3080
2.	animal feed	Bangkok MIRCEN	TISTR3167
3.	decaying leaves	Bangkok MIRCEN	TISTR3331
4.	ดิน	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	KU
5.	ก้อนเชื้อเห็ด	กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์	MB

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.9 มาทดสอบประสิทธิภาพของการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อไป โดยมีวิธีการทดสอบดังต่อไปนี้

3.10.1 การเจริญแข่งขัน (competition)

เลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* บนอาหาร PDA อายุ 5-7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 8 มิลลิเมตร ตัดชิ้นอาหารวุ้นที่มีเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี นำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อโดยวาง mycelial disc ให้ห่างจากขอบจาน 1.5 เซ็นติเมตร ปล่อยให้เชื้อเจริญเติบโต 3 วัน ก่อนวาง mycelial disc ขนาด 8 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 2-3 วัน ไว้ตรงข้ามในจานเพาะเชื้อ ให้ระยะห่างของเชื้อราทั้งสองเท่ากับ 6 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน สังเกตการเจริญและปฏิกิริยาของเชื้อราทั้งสองชนิดเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปล่อยให้เชื้อ *P. nicotianae* var. *parasitica* เจริญเพียงลำพัง (องอาจ และคณะ. 2534)

3.10.2 การเป็นไมโคพาราสิต (mycoparasitism)

นำ mycelial disc ขนาด 3 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA วางลงบนขอบด้านใดด้านหนึ่งของแผ่นกระดาษแก้วขนาด 2x2 เซนติเมตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที ซึ่งปูทับอยู่บนอาหาร WA ในจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้สร้าง zoosporangium ก่อนวาง mycelial disc ขนาด 3 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ลงบนขอบของแผ่นกระดาษแก้วด้านตรงข้าม บ่มเชื้อทั้งสองต่ออีก 2-3 วัน จากนั้นนำ mycelial disc ของเชื้อทั้งสองออก ลอกกระดาษแก้วซึ่งมีเส้นใยของเชื้อราทั้งสองชนิดนำไปทำสไลด์โดยย้อมเส้นใยด้วยสี lactophenol-acid fuchsin และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อไป โดยวิธีนี้ดัดแปลงเทคนิคมาจากกรรมวิธีของ Singh and Faull. (1988)

3.10.3 การสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (antibiosis)

นำกระดาษแก้วที่ตัดเป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำไปปูทับผิวหน้าอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อ โดยดัดแปลงมาจากเทคนิคของ Simon *et al.* (1988) ก่อนวาง mycelial disc ขนาด 8 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่จะทดสอบลงตรงกึ่งกลางจาน บ่มเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trichoderma spp. เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นลอกกระดาษแก้วพร้อมโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เจริญออก แล้วนำ mycelial disc ของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ขนาด 8 มิลลิเมตร วางลงบนอาหารวุ้นในตำแหน่งกึ่งกลางจานเพาะเชื้อ ซึ่งเป็นตำแหน่งเดียวกันกับที่เคยวาง mycelial disc ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. บ่มเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่อุณหภูมิห้อง 4 วัน จากนั้นวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา ทำการทดสอบไอโซเลทละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับจานเพาะเชื้อควบคุม (Control) ที่ใช้เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* วางลงบนกระดาษแก้วแทนเชื้อรา *Trichoderma* spp. วัดขนาดโคโลนี *P. nicotianae* var. *parasitica* นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุของโรคโดยดัดแปลงสูตรของ Royse and Ries (1978) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = [(D_1 - D_2) / D_1] \times 100$$

เมื่อ D_1 = ขนาดของโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่อายุ 4 วัน ซึ่งเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เคยมีเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เจริญอยู่ก่อน 36 ชั่วโมง (จานเพาะเชื้อควบคุม) ลบด้วยขนาดของ mycelial disc ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่ใช้ในการทดลอง

D_2 = ขนาดของโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่อายุ 4 วัน ซึ่งเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เคยมีเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญอยู่ก่อน 36 ชั่วโมง ลบด้วยขนาดของ mycelial disc ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่ใช้ในการทดลอง

3.10.4 การย่อยสลายเซลลูโลส (cellulose degradation)

เตรียม mycelial disc ขนาด 3 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. นำไปทดสอบตามวิธีของจิระเดช และคณะ (2538) โดยวางลงบนผิวหน้าอาหารสังเคราะห์ในหลอดทดสอบที่มีอาหารแข็งปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลส (ภาคผนวก ก.) จะมี microcrystalline cellulose ในรูปของ swollen cellulose (ภาคผนวก ค.) เป็นแหล่งคาร์บอน ทำการทดลองไอโซเลทละ 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลโดยการวัดความกว้างของบริเวณใสที่เกิดขึ้นภายใต้ผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากปลูกเชื้อนาน 2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11 การจำแนกสปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้

เตรียม mycelial disc ขนาด 8 มิลลิเมตร ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบจากข้อ 3.9 นำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA, malt extract agar (MEA) (Samson and Reenen-Hoekstra. 1988) และ 2% malt extract agar (2% MA) (Rifai. 1969) ดังภาคผนวก ก. บ่มเชื้อในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 วัน ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อเริ่มมีการสร้าง phialide จะเป็นระยะที่สามารถตรวจการจัดเรียงตัวของ conidiophore และ phialide ได้ง่าย โดยตรวจสอบจากเชื้อที่เจริญบนอาหาร MEA ซึ่งมีการสร้าง conidiophore, phialide และเส้นใยที่หนาแน่นกว่าบนอาหาร 2 % MA มาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการย้อมสี lactophenol-acid fuchsin วัดขนาดด้วย ocular micrometer และบันทึกลักษณะรูปร่างและการจัดเรียงตัว จากนั้นบ่มเชื้อต่อในที่มีแสงสว่างส่องถึงหรือภายใต้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เพื่อให้เชื้อสร้าง phialospore จนเชื้ออายุ 2-4 สัปดาห์ซึ่งเป็นระยะที่ chlamydospore และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความแก่เหมาะสมที่ใช้ศึกษาขนาดและรูปร่าง จึงนำเชื้อที่เจริญบนอาหาร 2% MA ซึ่งมีการกระจายตัวของ chlamydospore และ phialospore ไม่หนาแน่นเกินไปมาตรวจลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการย้อมสี lactophenol-acid fuchsin และ lactophenol (Dhingra and Sinclair. 1987) ดังภาคผนวก ข.วัดขนาด บันทึกลักษณะ รูปร่าง สี และตำแหน่งบนเส้นใย ตรวจการสร้างเม็ดสีจากเชื้อที่เจริญบนอาหาร PDA นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเจริญบนอาหาร MEA ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยวัดขนาดโคโลนี หลังปลูกเชื้อนาน 4 วัน จากนั้นนำผลที่ได้มาประกอบการพิจารณาจำแนกสปีชีส์เปรียบเทียบกับเอกสารของ Rifai (1969) ดังแสดงบางส่วนในภาคผนวก ง. และของ Bissett (1984, 1991a, 1991b, 1991c และ 1992) แสดงบางส่วนในภาคผนวก จ. ฉ. ช. และซ.

3.12 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง

3.12.1 การเตรียมกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่ใช้ทดสอบ

เลี้ยงเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในอาหาร CA จนเชื้อมีอายุ 3-5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อย้ายลงเลี้ยงต่อในทรายที่มีข้าวโอ๊ตผสมอยู่ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยปลูกเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในอัตราส่วน 1 mycelial disc ต่อทรายผสมหนัก 50 กรัม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 14 วัน ก่อนนำกล้าเชื้อที่เตรียมได้ไปทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.12.2 การเตรียมกล้าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ใช้ทดสอบ

นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดและต่ำสุดซึ่งผ่านการทดสอบข้อ 3.10 มาเตรียมกล้าเชื้อโดยเลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 45 นาที ทำการปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร MEA อายุ 7 วันในอัตราส่วน 10^7 สปอร์ต่อข้าวฟ่าง 100 กรัม บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 7 วัน นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ปกคลุมอยู่มาเติมน้ำเล็กน้อยแล้วปั่นให้ละเอียดด้วย blender จากนั้นผสมกับผง diatomaceous earth ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก คลุกเคล้าให้เข้ากัน เกลี่ยให้เป็นแผ่นบาง นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่มจนแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดละเอียดโดยใช้ blender และร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 35 mesh หรือขนาด 500 ไมโครเมตร จะได้กล้าเชื้อที่จะใช้ทดสอบ การเก็บรักษาให้เก็บในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ต่อไป (จิระเดช. 2531)

3.12.3 การทดสอบหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินปลูก

ทำการตัดกิ่งต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมขนาด 5 นิ้ว ทิ้งไว้ให้แผลรอยตัดแห้งในร่ม 1 วัน ก่อนนำไปปักชำลงดินในกระถางพลาสติกขนาด 4 นิ้ว ที่มีส่วนผสมของกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่เตรียมได้ตามข้อ 3.12.1 กับดินใบก้ามปูที่มีความชื้น 45 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยผสมกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูที่ ฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 โดยน้ำหนัก บ่มดินผสมที่ได้ในถุงพลาสติกนาน 24 ชั่วโมง ก่อนปักชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนที่เตรียมได้ ควบคุมความชื้นของดินให้มีค่าประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น ตรวจนับจำนวนต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าหลังปักชำ 30 วัน เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูที่เหมาะสมที่จะใช้ทดสอบในข้อต่อไป

3.12.4 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ในขั้นตอนการปักชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน

จากผลการทดสอบข้อ 3.10 ได้คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1 ซึ่งเป็นไอโซเลทที่มีคุณลักษณะดีเด่นครบทุกข้อ นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับเรือนปลูกพืชทดลองเปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 ซึ่งเป็นไอโซเลทที่มีลักษณะด้อยกว่าในบางประการโดยเฉพาะกลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ โดยการตัดกิ่งต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมขนาด 5 นิ้ว ทิ้งไว้ให้แผลรอยตัดแห้งในร่ม 1 วัน ก่อนปักชำลงในกระถางพลาสติกขนาด 4 นิ้ว ที่มีส่วนผสมของดินใบก้ามปูที่มีความชื้น 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ผสมดินนี้กับกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* และกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในอัตราส่วนกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูต่อกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. เท่ากับ 1 : 8 : 0.2 โดยน้ำหนัก ทำการบ่มดินผสมที่เตรียมได้เป็นเวลา 2 วันในถุงพลาสติกก่อนนำไปใช้ปักชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน ควบคุมความชื้นของดินให้มีค่าประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ตรวจนับจำนวนต้นโป๊ยเซียนที่รอดตายหลังปลูก 30 วัน นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. แต่มีใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในดินเพียงชนิดเดียว โดยมีกรรมวิธีที่ไม่ใส่กล้าเชื้อใด ๆ ในดินเลยเป็นกรรมวิธีควบคุม ใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) (Little and Hills. 1972) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ 5 ต้น ซึ่งรายละเอียดของกรรมวิธีปฏิบัติต่อดินใบก้ามปูที่จะนำไปใช้ปักชำมีดังนี้

1. กรรมวิธี TK+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1 และกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในดินใบก้ามปูแล้วบ่มดิน 2 วันก่อนนำไปใช้ปักชำ
2. กรรมวิธี TA+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 และกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในดินใบก้ามปูแล้วบ่มดิน 2 วันก่อนนำไปใช้ปักชำ
3. กรรมวิธี Phy = ใส่ผง diatomaceous earth แทนกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในดินใบก้ามปูแล้วบ่มดิน 2 วันก่อนนำไปใช้ปักชำ
4. กรรมวิธีควบคุม (Control) = ใส่ผง diatomaceous earth แทนกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และใส่ทรายผสมข้าวโอ๊ด 5 เปอร์เซ็นต์แทนกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในดินใบก้ามปูแล้วบ่มดิน 2 วันก่อนนำไปใช้ปักชำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการสำรวจโรคและลักษณะอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

จากการสำรวจโรคของต้นโป๊ยเซียนจากแหล่งปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเชิงการค้าของเกษตรกร จำนวน 4 แหล่ง ซึ่งประกอบด้วยกรุงเทพมหานคร 3 แหล่งและจังหวัดปราจีนบุรีอีก 1 แหล่ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2540 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน โดยมีสถานที่ตั้งและกิจกรรมของสวนโป๊ยเซียนแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 โรคสำคัญที่สำรวจพบคือ โรคโคนต้นเน่าและรากเน่า โรคใบจุด และโรคใบเน่ายอดเน่า โดยพบว่าโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าเป็นโรคที่สำคัญที่สุด ต้นที่เป็นโรคจะตายลงอย่างรวดเร็วก่อนจะรักษาได้ทัน การใช้สารเคมีทางการเกษตรรักษาต้นโป๊ยเซียนที่เป็นโรคนี้มักไม่ได้ผล เกษตรกรจึงเน้นการป้องกันโดยจัดสถานที่ให้โปร่งอากาศถ่ายเท ไม่ให้มีน้ำขังในวัสดุปลูกมากเกินไป โรคนี้มีการระบาดกับทุกสวนที่ไปสำรวจและสามารถเกิดกับต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมและพันธุ์ดีที่ปลูกเลี้ยงเป็นการค้าอื่น ๆ ทุกขนาด ตั้งแต่กิ่งปักชำขนาดเล็กไปจนถึงต้นโป๊ยเซียนขนาดใหญ่ โดยเฉพาะต้นขนาดเล็กที่อยู่ระหว่างขั้นตอนการปักชำเพื่อขยายพันธุ์พบการเข้าทำลายมากที่สุด การแพร่ระบาดของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในช่วงที่มีฝนตกหนักติดต่อกัน ในขณะที่โรคใบจุด และโรคใบเน่ายอดเน่า มีความสำคัญรองลงมาเนื่องจากส่วนใหญ่ทำให้ต้นโป๊ยเซียนขาดความสวยงามและทรุดโทรมแม้จะรักษาหายได้ยากแต่ก็ไม่รุนแรง สามารถป้องกันได้โดยการฉีดพ่นด้วยสารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อราทั่วไป

ลักษณะอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ระยะแรกคือต้นโป๊ยเซียนจะใบสลดเหมือนพืชขาดน้ำ ใบแก่ที่อยู่ด้านล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีซีดเหลืองปนเขียว รากบางส่วนถูกทำลายโดยเชื้อสาเหตุโรค (ภาพที่ 4.1ก) ต่อมาใบเปลี่ยนเป็นสีซีดเหลืองมากขึ้นและมีรอยแผลไหม้สีน้ำตาล (ภาพที่ 4.1ข) ก้านใบที่ติดกับลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ ลุกลามทั่วทั้งต้น ใบจะหลุดร่วงในเวลาต่อมา ลำต้นบริเวณที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายมีลักษณะนิ่มและเป็นแผลชุ่มน้ำสีน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะตัว แผลชุ่มน้ำจะลุกลามอย่างรวดเร็วทำให้ท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนเป็นสีดำ (ภาพที่ 4.1ค) บางครั้งพบเส้นใยราสีขาวลักษณะคล้ายสำลีเจริญบนลำต้นใกล้ระดับผิวดิน (ภาพที่ 4.1ง) ต่อมารากจะถูกทำลายทั้งหมด ผิวเปลือกรากเน่าหลุดล่อนออกและมีกลิ่นเหม็น เมื่ออาการของโรครุนแรงมากขึ้นต้นโป๊ยเซียนจะตายลงในที่สุด พบการระบาดของโรคเกิดขึ้นได้ง่ายในช่วงที่มีฝนตกชุก เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นโป๊ยเซียน ส่วนใหญ่เริ่มเข้าทำลายจากส่วนที่อยู่ใต้ดินหรือระดับดินก่อน มีบางครั้งพบว่าเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายที่ใบก่อนจะลุกลามสู่ลำต้นต่อไป

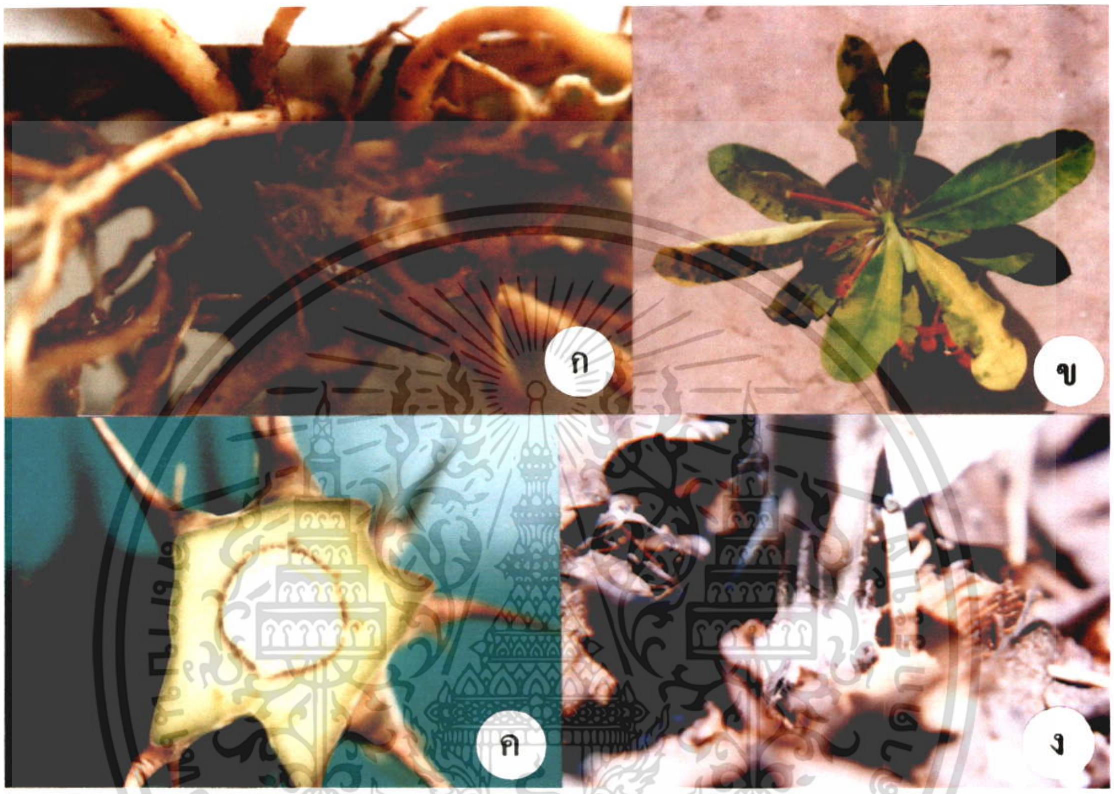
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 สถานที่ตั้งของสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า 4 แหล่ง กิจกรรมของสวน และโรคที่สำคัญของต้นโป๊ยเซียนที่พบขณะที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

สวนที่	สถานที่	กิจกรรมของสวน	ลำดับของโรคสำคัญที่พบ[1/]
1.	เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	ผลิตพันธุ์ดี และ ต้นตอพันธุ์แดงอุดม	1. โรคใบจุด 2. โรคโคนต้นเน่าและรากเน่า 3. โรคใบเน่ายอดเน่า
2.	เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	ผลิตพันธุ์ดี	1. โรคโคนต้นเน่าและรากเน่า 2. โรคใบเน่ายอดเน่า
3.	เขต หนองจอก กรุงเทพฯ	ผลิตต้นตอพันธุ์แดงอุดม	1. โรคโคนต้นเน่าและรากเน่า 2. โรคใบจุด 3. โรคใบเน่ายอดเน่า
4.	อ.ประจันตคาม ปราจีนบุรี	ผลิตพันธุ์ดี	1. โรคโคนต้นเน่าและรากเน่า 2. โรคใบจุด 3. โรคใบเน่ายอดเน่า

[1/] ลำดับของโรคที่พบบ่อยครั้งในสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า ได้จากการสัมภาษณ์เจ้าของสวนโป๊ยเซียนแต่ละแหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

ก. บริเวณรากที่กำลังเน่าของต้นโป๊ยเซียนที่เริ่มแสดงอาการของโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

ข. ใบที่ซีดเหลืองและแผลไหม้สีน้ำตาลเนื่องจากถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย

ค. ท่อน้ำท่ออาหารที่เปลี่ยนเป็นสีดำเนื่องจากถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย

ง. เส้นใยเชื้อราสาเหตุก่อโรคกำลังเจริญบนลำต้นใกล้ระดับดินของต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการแยกเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนให้บริสุทธิ์

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่เก็บจากสวนปลูกเลี้ยงที่ไปสำรวจทั้ง 4 แหล่ง ซึ่งประกอบไปด้วยต้นที่เริ่มแสดงอาการ กำลังเป็นโรค อาการรุนแรง ไปจนถึงต้นที่เชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายจนตายแล้วรวมจำนวน 37 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4.2) พบว่าเมื่อนำต้นโป๊ยเซียนที่เริ่มแสดงอาการของโรคและที่กำลังเป็นโรคมาแยกเชื้อสาเหตุโรค สามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่คาดว่าจะเป็นเชื้อสาเหตุโรคที่มีลักษณะเดียวกันทั้งหมด โดยมีลักษณะเป็นเชื้อราน้ำเส้นใยสีขาวสร้าง zoospore ภายใน zoosporangium โดยสามารถแยกเชื้อราชนิดนี้ได้จากตัวอย่างต้นโป๊ยเซียน 23 ตัวอย่างจากทั้งหมด 37 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4.2) เป็นที่น่าสังเกตว่าการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการของโรครุนแรงและต้นที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายจนตายแล้ว มักแยกได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลาย มีทั้งเชื้อราเส้นใยสีขาวสร้าง zoospore ลักษณะเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้นและเชื้อราที่มีลักษณะอื่นที่แตกต่างออกไปอีกหลายชนิด บางครั้งแยกได้เชื้อแบคทีเรียร่วมด้วย

4.3 ผลการจำแนกสกุล (genus) เชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

เมื่อนำเชื้อราน้ำเส้นใยสีขาวที่แยกได้มาศึกษาพบว่า เชื้อราน้ำชนิดนี้ขณะเจริญบนอาหารแข็งเส้นใยมีสีขาวลักษณะคล้ายสำลีเจริญฟูขึ้นเหนือผิวหน้าและไม่พบการสร้างสปอร์หรือพบสร้างน้อยมาก เมื่อนำเชื้อรานี้มาเลี้ยงในน้ำกลั่นโดยมีเมล็ดข้าวฟ่างเป็นเหยื่อล่อ พบเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้าง zoospore ว่ายน้ำมาพักตัวและเจริญเป็นเส้นใยปกคลุมเมล็ดข้าวฟ่างอย่างหนาแน่นและสร้าง zoosporangium เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของราน้ำที่มีการสร้าง zoospore เป็นเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและจะสร้างในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงหรือที่มีน้ำ zoosporangium ของราชนิดนี้มีรูปร่างหลายแบบ ส่วนใหญ่มีรูปร่างเกือบกลม มี papilla ชัดเจน เมื่อมีอายุมากและถูกกระตุ้นด้วยอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป จะเกิดการปลดปล่อย zoospore ว่ายน้ำเพื่อแพร่พันธุ์ เส้นใยของราชนิดนี้มีลักษณะเหนียว ขนาดเส้นใยไม่สม่ำเสมอ การเรียงตัวไม่แน่นอน มีผนังกั้นเป็นช่วงห่าง ๆ จากลักษณะที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าเป็นลักษณะของเชื้อรา *Phytophthora* sp. (ภาพที่ 4.2)

4.4 ผลการพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

4.4.1 การปลูกเชื้อด้วย mycelial disc โดยทำแผลที่ลำต้น

จากการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้จากต้นโป๊ยเซียนที่เป็นโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าลงบนแผลที่ลำต้นเหนือระดับดินของต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม ภายหลังการปลูกเชื้อ 2 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แหล่งที่มา ลักษณะของตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่นำมาแยกเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อจากชิ้นเนื้อเยื่อตัวอย่างได้เชื้อราเส้นใยสีขาวที่สร้าง zoospore

ตัวอย่างที่	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง [1]	ลักษณะของต้นโป๊ยเซียนตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อ	อาการของโรค [2]	จำนวนชิ้นตัวอย่างที่แยกได้เชื้อราเส้นใยสีขาวที่สร้าง zoospore/ จำนวนชิ้นตัวอย่างที่พบจุลินทรีย์	เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อได้เชื้อราเส้นใยสีขาวสร้าง zoospore
1.	สวนที่ 2	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++++	0/7	0.00
2.	สวนที่ 1	ขนาดใหญ่ สูง 12 นิ้ว เป็นพุ่ม	+	10/10	100.00
3.	สวนที่ 1	ขนาดใหญ่ สูง 15 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	1/6	16.67
4.	สวนที่ 2	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++++	0/6	0.00
5.	สวนที่ 2	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++++	0/7	0.00
6.	สวนที่ 2	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++++	0/7	0.00
7.	สวนที่ 2	ขนาดกลาง สูง 8 นิ้ว เป็นพุ่ม	++++	0/8	0.00
8.	สวนที่ 2	ขนาดกลาง สูง 10 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++++	0/8	0.00
9.	สวนที่ 4	ขนาดใหญ่ สูง 12 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	0/4	0.00
10.	สวนที่ 4	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	8/8	100.00
11.	สวนที่ 1	ขนาดใหญ่ สูง 12 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	8/8	100.00
12.	สวนที่ 1	ขนาดเล็ก สูง 6 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+	6/6	100.00
13.	สวนที่ 1	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	0/6	0.00
14.	สวนที่ 1	ขนาดเล็ก สูง 6 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	8/8	100.00
15.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 7 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	0/7	0.00
16.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 8 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	5/10	50.00
17.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 7 นิ้ว เป็นพุ่ม	+++	0/9	0.00
18.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 8 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	0/6	0.00
19.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 7 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	4/4	100.00
20.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+++	5/6	83.33
21.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	10/10	100.00
22.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+	10/10	100.00
23.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว เป็นพุ่ม	+	9/10	90.00
24.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	10/10	100.00
25.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+	7/8	87.50
26.	สวนที่ 3	ขนาดกลาง สูง 9 นิ้ว เป็นพุ่ม	+	10/10	100.00
27.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+	10/10	100.00
28.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	5/5	100.00
29.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	10/10	100.00
30.	สวนที่ 3	ขนาดใหญ่ สูง 30 นิ้ว เป็นพุ่ม	+++	0/2	0.00
31.	สวนที่ 4	ขนาดใหญ่ สูง 20 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	10/10	100.00
32.	สวนที่ 4	ขนาดกลาง สูง 10 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	0/10	0.00
33.	สวนที่ 4	ขนาดใหญ่ สูง 12 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	0/9	0.00
34.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	+	10/10	100.00
35.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 4 นิ้ว ต้นเดี่ยว	++	10/10	100.00
36.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	10/10	100.00
37.	สวนที่ 3	ขนาดเล็ก สูง 5 นิ้ว เป็นพุ่ม	++	4/4	100.00

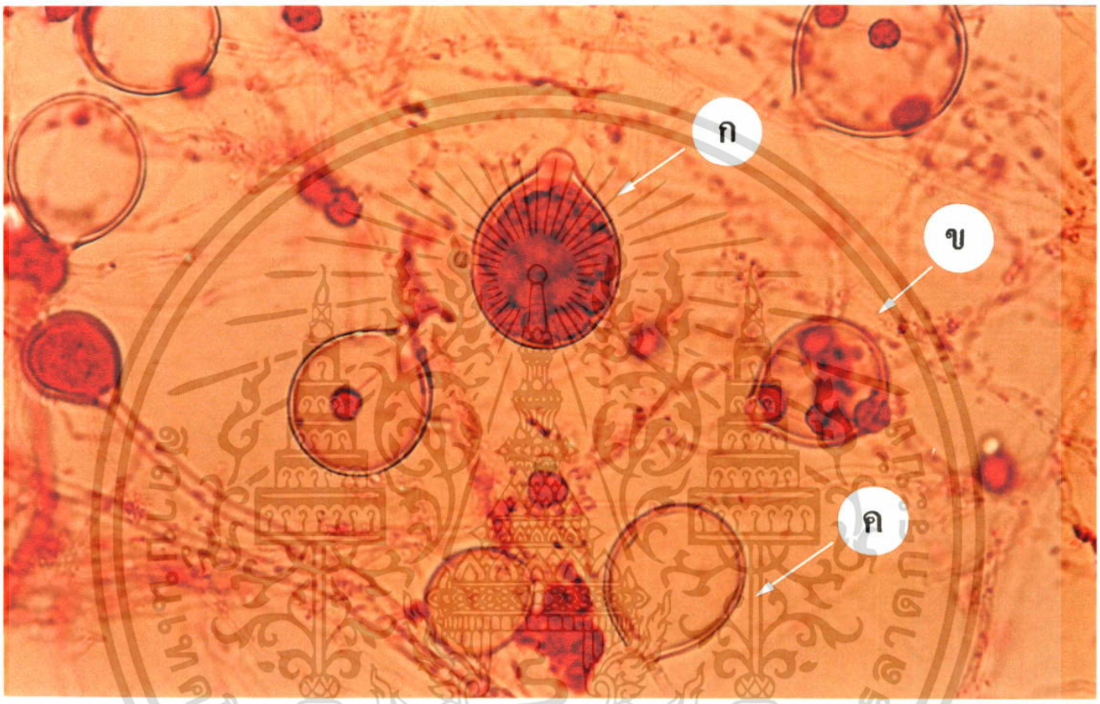
[1] สถานที่ตั้งของสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนที่สำรวจโรคและเก็บตัวอย่าง

สวนที่ 1 อยู่ที่ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ สวนที่ 2 อยู่ที่ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ สวนที่ 3 อยู่ที่ เขตหนองจอก กรุงเทพฯ สวนที่ 4 อยู่ที่ อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี

[2] แสดงขั้นความรุนแรงของอาการโรคของตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่เก็บมาแยกเชื้อ

\+ = เริ่มแสดงอาการของโรค ++ = กำลังเป็นโรค +++ = อาการของโรครุนแรง ++++ = ต้นที่ตายแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อราเส้นใยสีขาวที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นโป๊ยเซียนที่กำลังเป็นโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า พบ zoosporangium ที่กำลังพัฒนา zoospore อยู่ภายใน (ก) ที่กำลังปลดปล่อย zoospore ออกสู่ภายนอกทางติ่งยื่นที่ปลาย papilla ของ zoosporangium (ข) และ zoosporangium ที่ปลดปล่อย zoospore ออกจนว่างเปล่า (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าต้นโป๊ยเซียนเริ่มแสดงอาการใบซีดเหลืองปนเขียวและมีรอยแผลสีน้ำตาลเกิดขึ้นเป็นจุด ๆ ที่ใบ ใบทั้งหมดเหี่ยวเหมือนพืชขาดน้ำ ก้านใบบริเวณใกล้กับจุดที่ปลูกเชื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ ที่ลำต้นบริเวณที่ปลูกเชื้อจะเน่ายุบตัว บางต้นที่แสดงอาการรุนแรงจนต้นโป๊ยเซียนล้มพับลง เมื่อผ่าลำต้นตามความยาว พบลำต้นบริเวณที่ปลูกเชื้อเป็นแผลชุ่มน้ำสีน้ำตาลและลุกลามไปสู่ยอดและโคนต้น (ภาพที่ 4.3ก) พบท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนเป็นสีดำลุกลามไปตามลำต้น เมื่อเวลาผ่านไปอาการของโรคจะรุนแรงขึ้นจนในวันที่ 5 หลังจากปลูกเชื้อ ต้นโป๊ยเซียนจะตาย ใบร่วงหมด ลำต้นนิ่มและเหี่ยวทั้งต้น ซึ่งอาการที่กล่าวมาเป็นอาการเช่นเดียวกับอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าที่ได้สำรวจไว้ในข้อ 4.1 เมื่อนำต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการดังกล่าวไปแยกเชื้อซ้ำ พบว่าเชื้อที่แยกได้เป็นเชื้อราชนิดเดียวกันกับที่ใช้ปลูกเชื้อ

4.4.2 การปลูกเชื้อในน้ำเพื่อให้เชื้อรา *Phytophthora* sp. สร้าง zoospore ว่ายน้ำไปเข้าทำลายต้นโป๊ยเซียน

ต้นโป๊ยเซียนที่แช่ในน้ำที่มีการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. แสดงอาการโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า ภายหลังปลูกเชื้อนาน 14 วัน คือใบซีดเหลืองและหลุดร่วง ต่อมาลำต้นมีลักษณะนิ่ม เมื่อผ่าลำต้นตามความยาวพบว่าเป็นรอยชุ่มน้ำลุกลามจากโคนต้นไปสู่ยอด เมื่อตรวจดูส่วนที่แช่น้ำพบเชื้อราเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมโคนต้นและรากเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 4.3ข) เมื่อนำรากของต้นโป๊ยเซียนซึ่งแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าที่แช่น้ำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบ zoospore พักตัวที่บริเวณรากของต้นโป๊ยเซียนเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 4.3ค) และพบ zoosporangium บนเส้นใยเชื้อราที่เจริญปกคลุมอยู่ที่ราก (ภาพที่ 4.3ง) เมื่อนำต้นโป๊ยเซียนที่แสดงอาการของโรคมาแยกเชื้อซ้ำ พบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora* sp. เช่นเดียวกับเชื้อที่ใช้ปลูกเชื้อในน้ำ

4.5 ผลการจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

4.5.1 การศึกษารูปแบบการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

การเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp.ที่แยกได้จำนวน 23 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.3) บนอาหาร PDA และ CA ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าทุกไอโซเลทให้ผลที่เหมือนกันคือ เส้นใยมีลักษณะสีขาวเหนียว ฟูขึ้นที่ผิวหน้าอาหารเล็กน้อย การเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (irregular) รูปแบบโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหาร PDA เป็นแบบ rosette pattern (ภาพที่ 4.4ก) การเจริญบนอาหาร PDA ใช้เวลาในการเจริญเต็มจานเพาะเชื้อ 14 วัน แต่บนอาหาร CA เจริญได้รวดเร็วกว่า เจริญเต็มจานเพาะเชื้อใช้เวลา 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แหล่งที่มาและผลการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลทต่าง ๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลำดับ	แยกจากตัวอย่างที่[1]	ชื่อไอโซเลท	การเจริญบนอาหาร PDA[2]	การเจริญบนอาหาร CA[2]
1.	2 .	40-8-1-1	+	++
2.	3.	40-8-1-2	+	++
3.	10.	40-9-10-1	+	++
4.	11.	40-9-13-1	+	++
5.	12.	40-9-13-2	+	++
6.	14.	40-9-13-3	+	++
7.	16.	40-10-6-1	+	++
8.	19.	40-10-6-2	+	++
9.	20.	40-10-14-1	+	++
10.	21.	40-10-10-2	+	++
11.	22.	40-10-14-3	+	++
12.	23.	40-10-14-4	+	++
13.	24.	40-10-14-5	+	++
14.	25.	40-10-14-6	+	++
15.	26.	40-10-14-7	+	++
16.	27.	40-10-14-8	+	++
17.	28.	40-10-14-9	+	++
18.	29.	40-10-14-10	+	++
19.	31.	40-10-27-1	+	++
20.	34.	40-10-27-2	+	++
21.	35.	40-10-27-3	+	++
22.	36.	40-10-27-4	+	++
23.	37.	40-10-27-5	+	++

[1] ตัวอย่างต้นโป๊ยเซียนที่นำมาแยกเชื้อที่มีแหล่งที่มาดังแสดงในตารางที่ 4.2

[2] การเจริญวัดจากความหนาแน่นของเส้นใยของโคโลนี

\+ = เส้นใยหนาแน่นน้อย   ++ = เส้นใยหนาแน่นมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.3 ลักษณะอาการของต้นโป๊ยเซียนหลังปลูกเชื้อที่ลำต้นและปลูกเชื้อในน้ำด้วยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้

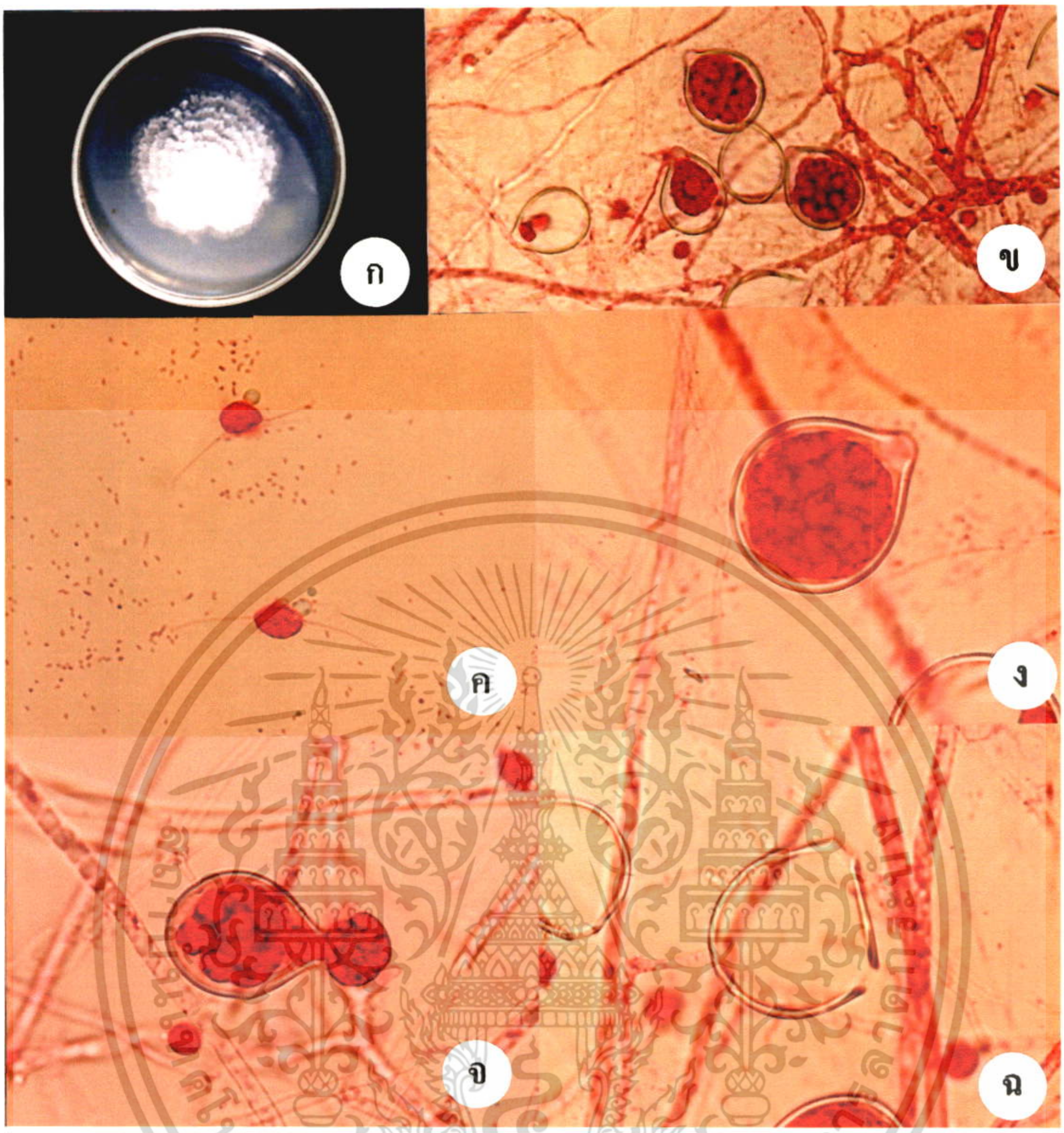
ก. แผลชุ่มน้ำสีน้ำตาลลุกลามไปตามลำต้นจากตำแหน่งที่ปลูกเชื้อ

ข. เชื้อราเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมส่วนรากของต้นโป๊ยเซียนในน้ำที่ปลูกเชื้อ

ค. zoospore (จุดกลมติดสีเข้ม) พักตัวเป็นจำนวนมากบนรากของต้นโป๊ยเซียนในน้ำที่ปลูกเชื้อ

ง. เชื้อราเส้นใยสีขาวที่เจริญปกคลุมส่วนรากมีการสร้าง zoosporangium ที่ผิวราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ลักษณะโคโลนี เส้นใย zoosporangium และ zoospore ของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

ก. การเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA เป็นแบบ rosette pattern

ข. การจัดเรียงตัวของเส้นใยและ zoosporangium

ค. ลักษณะ zoospore ที่มีรูปร่างคล้ายผลมะนาวและมี flagella 2 เส้น

ง. ลักษณะ zoosporangium ที่เป็นแบบ papillate รูปร่างที่พบส่วนใหญ่ค่อนข้างกลม เมื่อแก่เต็มที่จะพบ papilla ชัดเจน

จ. zoospore ที่สร้างในบาง zoosporangium เมื่อแก่เต็มที่จะดันกันออกมาทางติ่งยื่นที่ปลาย papilla แล้วรวมกันอยู่ใน vesicle ระยะเวลาหนึ่งก่อนว่ายน้ำแยกย้ายกันไป

ฉ. zoosporangium ที่ zoospore ว่ายน้ำออกไปจนหมด เหลือแต่ผนังที่ว่างเปล่าและบาง zoosporangium ที่มีรอยเปิดของ papilla มากกว่า 1 ช่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

การเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.0 เซนติเมตร และสามารถเจริญได้ที่ 15 และ 35 องศาเซลเซียส เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 1.0 และ 1.5 เซนติเมตรตามลำดับ ดังแสดงรายละเอียดในตาราง 4.4

4.5.3 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

เชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่างในน้ำ เมื่อนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเส้นใยเป็นแบบมีผนังกั้นเป็นช่วง ๆ ห่างกัน (length septate hyphae) มีการเรียงตัวไม่แน่นอน เส้นใยไม่สม่ำเสมอ สร้าง zoosporangium จำนวนมาก (ภาพที่ 4.4ข) ที่ปลายเส้นใยบางครั้งเป็นแบบอยู่ระหว่างเส้นใย (intercalary) หรือแตกออกด้านข้าง (lateral) ภายใน zoosporangium มี zoospore เป็นจำนวนมาก zoospore มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว มี flagella 2 เส้น (ภาพที่ 4.4ค) zoosporangium เป็นแบบ papillate ส่วนใหญ่รูปร่างค่อนข้างกลม (ภาพที่ 4.4ง) และพบรูปร่างหลายแบบคือแบบ spherical, more or less (±) spherical, ovoid, ellipsoid และ obpyriform zoosporangium ที่แก่มี papilla ชัดเจน (ภาพที่ 4.4ง) zoospore ที่สร้างใน zoosporangium จะดันกันออกมาทางติ่งขึ้นที่ปลาย papilla ของ zoosporangium ในบางครั้งออกมารวมกันอยู่ใน vesicle (ภาพที่ 4.4จ) ชั่วระยะเวลาหนึ่งประมาณ 2-3 วินาที ก่อนว่ายน้ำแยกย้ายกันไป zoospore จะว่ายน้ำอยู่ระยะหนึ่งก่อนจะพักตัวเป็นก้อนกลม zoospore ที่ดันออกมาไม่หมดจะว่ายน้ำไปมาใน zoosporangium เพื่อหาทางออกจาก zoosporangium จนหมดในที่สุดเหลือแต่ผนังที่ว่างเปล่า zoosporangium อาจมีรอยเปิดของ papilla มากกว่า 1 ช่อง (ภาพที่ 4.4ฉ) zoosporangium มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 43.0 x 37.4 μm มีค่าเฉลี่ย L/B ratio = 1.15 จากลักษณะทั้งหมดที่ศึกษาได้จำแนกเป็น *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse

4.6 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในการทำให้เกิดโรค

จากการทดลองปลูกเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค โดยปลูกเชื้อในรูป mycelial disc ลงบนแผลที่ลำต้นเหนือระดับดิน พบว่าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ไอโซเลท 40-10-6-2, 40-10-14-4 และ 40-10-14-10 มีสามารถก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงสูงสุด โดยทั้ง 3 ไอโซเลทมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงเท่ากันคือ 3 คะแนน ส่วนไอโซเลทอื่นให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงที่ต่ำกว่า (ตารางที่ 4.5) จึงคัดเลือกไอโซเลท 40-10-6-2 เป็นตัวแทนของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* สำหรับใช้ทดสอบต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลทต่าง ๆ บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส หลังจากบ่มเชื้อ 5 วัน

ลำดับ	ชื่อไอโซเลท	การเจริญที่ 15 °ซ[1/] (เซนติเมตร)	การเจริญที่ 25 °ซ[1/] (เซนติเมตร)	การเจริญที่ 35 °ซ[1/] (เซนติเมตร)
1.	40-8-1-1	0.6	3.0	1.1
2.	40-8-1-2	1.5	4.7	1.9
3.	40-9-10-1	0.6	3.0	0.6
4.	40-9-13-1	0.5	3.4	0.8
5.	40-9-13-2	1.0	4.0	1.1
6.	40-9-13-3	1.1	4.5	1.5
7.	40-10-6-1	1.5	5.0	1.8
8.	40-10-6-2	1.1	4.5	1.7
9.	40-10-14-1	1.2	4.4	1.6
10.	40-10-10-2	0.9	4.5	1.9
11.	40-10-14-3	1.3	4.8	2.0
12.	40-10-14-4	1.2	4.3	1.5
13.	40-10-14-5	1.0	4.5	1.7
14.	40-10-14-6	1.7	4.7	2.0
15.	40-10-14-7	0.4	2.0	0.6
16.	40-10-14-8	1.1	4.0	1.6
17.	40-10-14-9	0.6	2.5	1.0
18.	40-10-14-10	1.1	5.0	2.3
19.	40-10-27-1	0.5	2.5	1.0
20.	40-10-27-2	1.0	4.8	2.2
21.	40-10-27-3	0.5	2.5	0.7
22.	40-10-27-4	1.4	5.0	2.1
23.	40-10-27-5	1.1	4.4	1.9
เฉลี่ย		**1.0**	**4.0**	**1.5**

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ไอโซเลทต่างที่แยกได้ โดยทดสอบกับต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม

ลำดับ	ชื่อไอโซเลท	คะแนนความรุนแรง[1/]
1.	40-8-1-1	1.7
2.	40-8-1-2	2.7
3.	40-9-10-1	ND[2/]
4.	40-9-13-1	1.0
5.	40-9-13-2	2.3
6.	40-9-13-3	2.7
7.	40-10-6-1	2.7
8.	40-10-6-2	3.0
9.	40-10-14-1	2.3
10.	40-10-10-2	2.7
11.	40-10-14-3	1.7
12.	40-10-14-4	3.0
13.	40-10-14-5	2.3
14.	40-10-14-6	2.7
15.	40-10-14-7	2.3
16.	40-10-14-8	1.7
17.	40-10-14-9	1.7
18.	40-10-14-10	3.0
19.	40-10-27-1	2.7
20.	40-10-27-2	2.3
21.	40-10-27-3	ND
22.	40-10-27-4	2.0
23.	40-10-27-5	2.0

[1/] ค่าเฉลี่ย จาก3 ซ้ำ

[2/] ND : ไม่มีข้อมูลเนื่องจากเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ ตายลงก่อนทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิดที่ต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

4.7.1 การทดสอบกับต้นพืชสกุล *Euphorbia* โดยปลูกเชื้อลงบนแผลที่ลำต้น

จากการปลูกเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในรูปของ mycelial disc บนแผลที่ลำต้นเหนือระดับดินของต้นพืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิด พบว่าต้นส้มเช้าและต้นโป๊ยเซียนพันธุ์จักรพรรดิมีความสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ความต้านทานโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่พืช *Euphorbia* ชนิดอื่นมีความต้านทานที่ต่ำกว่า (ตาราง 4.6 และภาพที่ 4.5)

4.7.2 การทดสอบกับกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* โดยปลูกเชื้อลงบนแผลรอยตัด

จากการปลูกเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในรูปของ mycelial disc บริเวณแผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิด ก่อนนำไปบ่มเชื้อในกล่องความชื้น พบว่ากิ่งพันธุ์ต้นส้มเช้าสามารถต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ได้สูงที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ความต้านทานเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กิ่งพันธุ์ *Euphorbia* ชนิดอื่นมีความสามารถต้านทานการเข้าทำลายที่ต่ำกว่าจึงถูกเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เข้าทำลายได้ (ตาราง 4.7 และภาพที่ 4.6)

4.8 ผลการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp.

4.8.1 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูก

จากการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียนที่เก็บจากสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียน 4 แหล่ง รวมจำนวน 86 ตัวอย่าง สามารถแยกได้ 12 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.8) โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ มีลักษณะเจริญบนอาหาร Martin's medium ได้รวดเร็วกว่าเชื้อราชนิดอื่น และมีสร้างสปอร์แบบ phialospore เป็นกลุ่มหลวมๆหรือกลุ่มก้อนที่เกาะกันแน่น มีตำแหน่งที่สร้างสปอร์ (conidial area) เป็นรูปวงแหวน (ring-like zone) ดังภาพที่ 4.7 บางไอโซเลท มีวงแหวนของบริเวณสร้างสปอร์มากกว่า 1 วงซ้อน ๆ กัน ส่วนใหญ่มีโคโลนีสีเขียวปนขาวถึงเขียวเข้ม บางไอโซเลทมีโคโลนีสีเขียวปนเหลือง แตกต่างกันไปแต่ละไอโซเลท

4.8.2 การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากผิวรากต้นโป๊ยเซียน

จากการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากผิวรากต้นโป๊ยเซียนที่เก็บจากสวนปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียน 4 แหล่ง รวมจำนวน 67 ตัวอย่าง สามารถแยกได้ 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.8) โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ มีการเจริญและลักษณะการสร้างสปอร์เช่นเดียวกับเชื้อราที่แยกได้จากดินปลูกในข้อ 4.8.1 เชื้อที่พบมีโคโลนีสีขาวปนเขียวและสีเขียวปนเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ชนิดของต้นพืชสกุล *Euphorbia* ที่ใช้ทดสอบ 8 ชนิด และเปอร์เซ็นต์ที่ต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* โดยวิธีปลูกเชื้อลงบนแผลที่ลำต้น

ชนิดของพืช	จำนวนต้นที่ต้านทานการเข้าทำลาย/จำนวนต้นที่ปลูกเชื้อ	เปอร์เซ็นต์ความต้านทานโรค
ต้นส้มเช้า	5/5	100
ต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ	5/5	100
ต้นสลัดได	4/5	80
ต้นโป๊ยเซียนมหามงกุฎ	3/5	60
ต้นโป๊ยเซียนดวงนฤมล	1/5	20
ต้นโป๊ยเซียนทรัพย์ประเสริฐ	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนหนึ่งในจักรวาล	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดม	0/5	0

ตารางที่ 4.7 ชนิดของกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* ที่ใช้ทดสอบ 8 ชนิด และเปอร์เซ็นต์ที่ต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* โดยวิธีปลูกเชื้อลงบนแผลรอยตัด

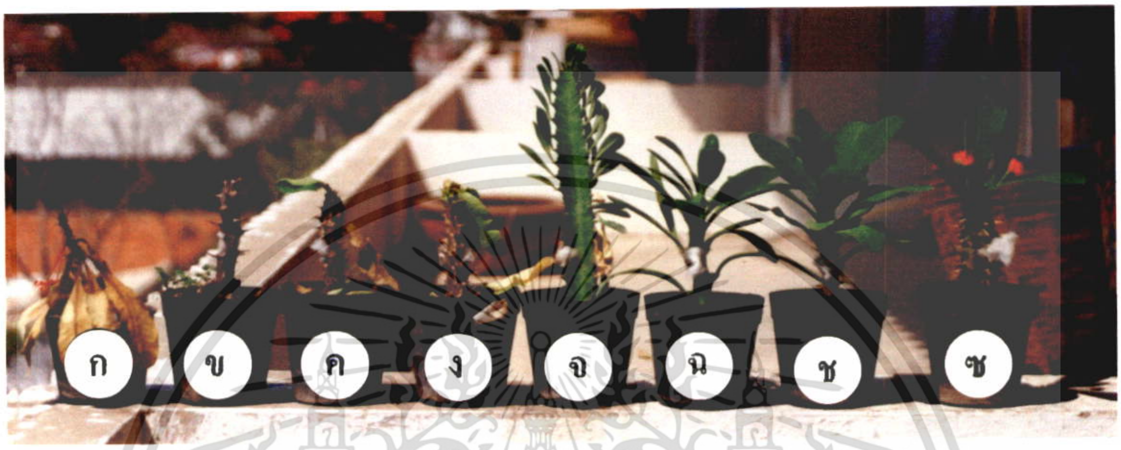
ชนิดของกิ่งพันธุ์	จำนวนกิ่งพันธุ์ที่ต้านทานการเข้าทำลาย/จำนวนกิ่งพันธุ์ที่ปลูกเชื้อ	เปอร์เซ็นต์ความต้านทานโรค
ต้นส้มเช้า	5/5	100
ต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ	3/5	60
ต้นสลัดได	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนมหามงกุฎ	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนดวงนฤมล	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนทรัพย์ประเสริฐ	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนหนึ่งในจักรวาล	0/5	0
ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดม	0/5	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แหล่งที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน

ลำดับ	แยกได้จาก	แหล่งที่มา	รหัสของไอโซเลท
1.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	S5-1
2.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	S11-1
3.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	S27-1
4.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี	S33-1
5.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตหนองจอก กรุงเทพฯ	S36-1
6.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตหนองจอก กรุงเทพฯ	S38-1
7.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตกรุงเทพฯ	S38-2
8.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี	S40-1
9.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี	S40-2
10.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี	S63-1
11.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	S73-1
12.	ดินปลูก	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	S84-1
13.	รากต้นโป๊ยเซียน	สวนโป๊ยเซียน เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	R1-1
14.	รากต้นโป๊ยเซียน	สวนโป๊ยเซียน เขตหนองจอก กรุงเทพฯ	R18-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 การทดสอบการต้านทานของต้นพืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิดต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*

ก. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม

ข. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ทรัพย์ประเสริฐ

ค. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์หนึ่งในจักรวาล

ง. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ดวงนฤมล

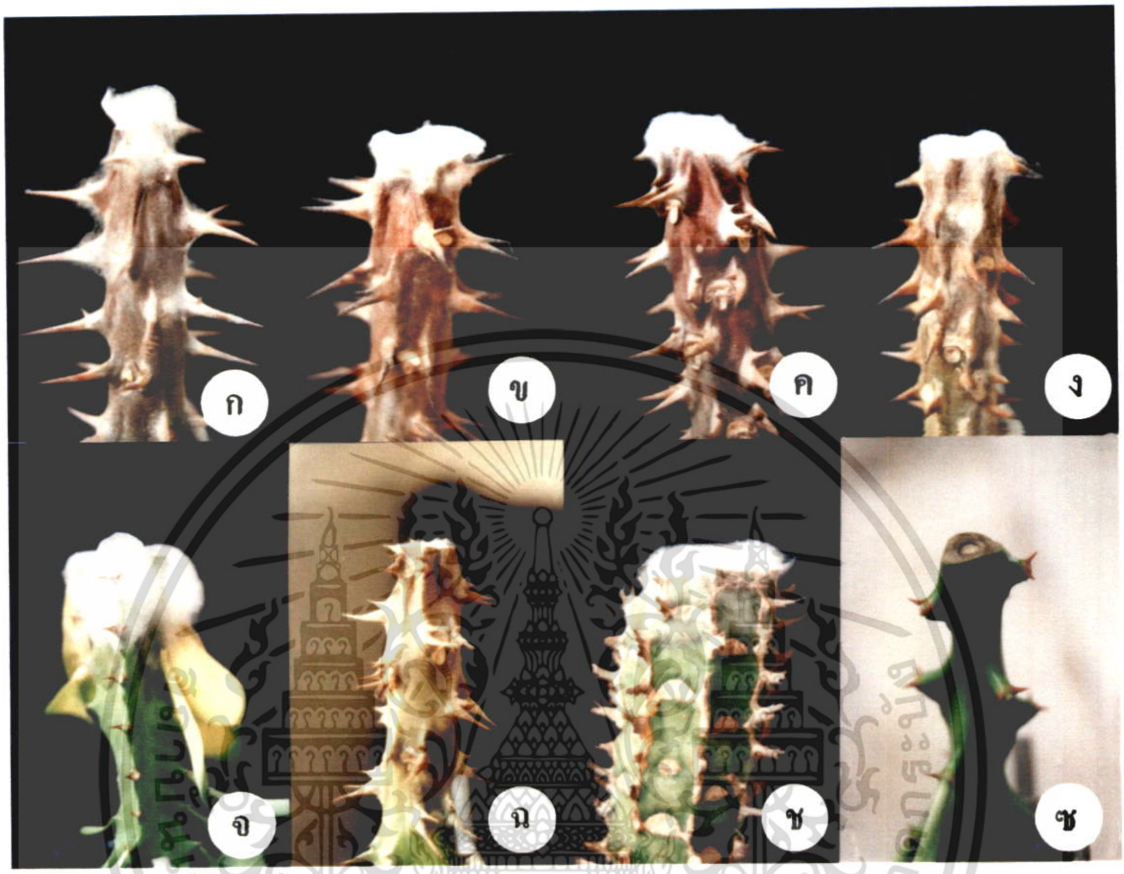
จ.ต้นสลัดได

ฉ. ต้นส้มเช้า

ช. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์มหามงกุฎ

ซ. ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์จักรพรรดิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 การทดสอบการต้านทานของกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิดต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*

ก. กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม

ข. กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ทรัพย์ประเสริฐ

ค. กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์หนึ่งในจักรวาล

ง. กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ดวงนฤมล

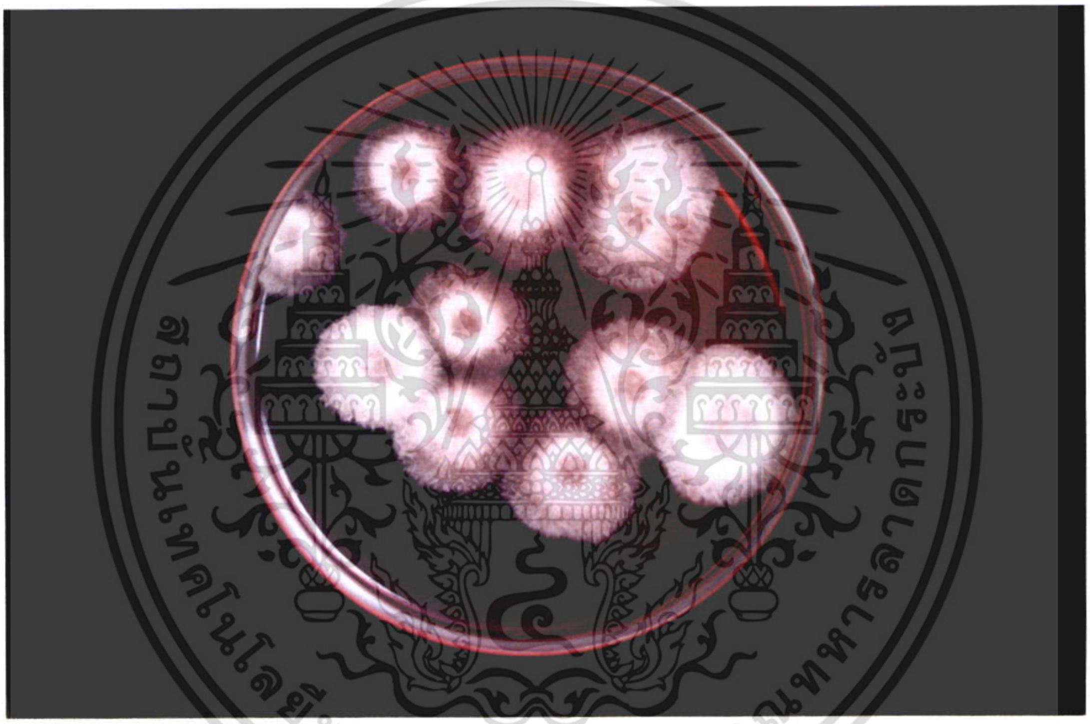
จ. กิ่งพันธุ์ต้นสลัดได

ฉ. กิ่งต้นโป๊ยเซียนพันธุ์มหามงกุฎ

ช. กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์จักรพรรดิ

ซ. กิ่งพันธุ์ต้นส้มเช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีการเจริญเป็นรูปวงแหวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 ผลการทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน

จากการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียน จำนวน 14 ไอโซเลทฯ (ตารางที่ 4.8) เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากแหล่งอื่นอีก 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 3.1) รวม 19 ไอโซเลท พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลท คือ S11-1, S33-1, S38-1, S38-2, S63-1, S84-1, TISTR3167 และ MB ก่อให้เกิดความเสียหายกับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม โดยเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 8 ไอโซเลทสามารถเจริญบนแผลรอยตัดและทำให้เนื้อเยื่อของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเน่ายุบตัวลงหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน (ภาพที่ 4.8) และพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกจำนวน 11 ไอโซเลท ไม่สร้างความเสียหายกับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม คือ S5-1, S27-1, S36-1, S40-1, S40-2, S73-1, R1-1, R18-1, TISTR3080, TISTR3331 และ KU จึงคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. กลุ่มหลังนี้ไว้ทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อไป

4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อรา *Trichoderma* spp.จำนวน 11 ไอโซเลทคือ S5-1, S27-1, S36-1, S40-1, S40-2, S73-1, R1-1, R18-1, TISTR3080, TISTR3331 และ KU ที่พบว่าไม่ก่อโรคหรือไม่สร้างความเสียหายกับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม มาทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ซึ่งให้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

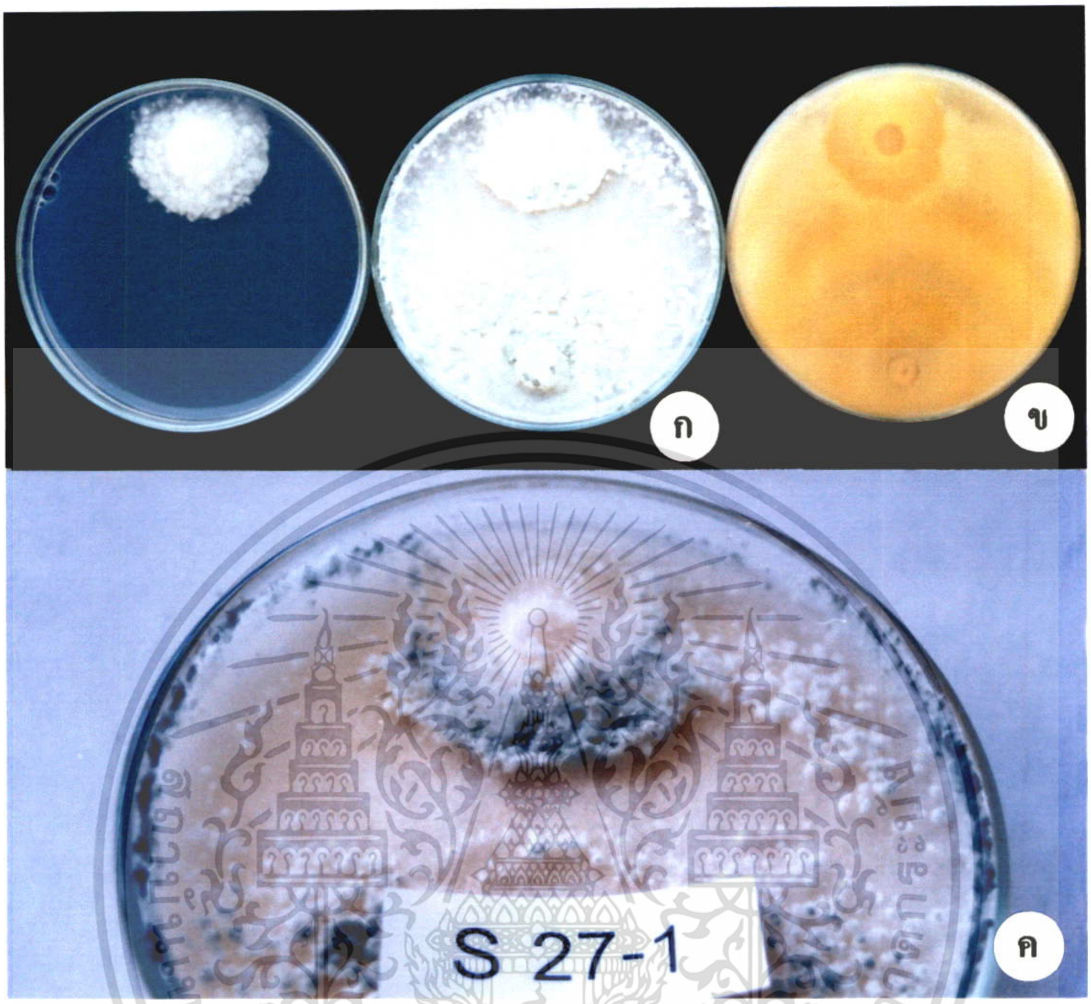
4.10.1 การเจริญแข่งขัน (competition)

จากการทดสอบการเจริญแข่งขันระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 11 ไอโซเลทที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.9 กับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp ทุกไอโซเลทที่ใช้ทดสอบสามารถสร้างเส้นใยปกคลุมอาหาร PDA ได้รวดเร็วกว่าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* และสามารถเจริญเข้าปกคลุมโคโลนีและยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* โดยโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่ปล่อยให้เจริญตามปกติจะมีขนาดใหญ่กว่าโคโลนีที่เจริญในจานเพาะเชื้อที่มี *Trichoderma* sp. เจริญร่วมด้วย (ภาพที่ 4.9ก) แสดงว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*ได้ บางไอโซเลททำให้โคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือน้ำตาล (ภาพที่ 4.9ข) บางไอโซเลทสร้างสปอร์ปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อย่างหนาแน่น (ภาพที่ 4.9ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.8 แผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนที่ทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซ้าย : กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดมที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบซึ่งไม่ได้มีปลูกเชื้อ กลาง และขวา : กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดมที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. เข้าทำลายโดยการเจริญและสร้างสปอร์ปกคลุมแผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 การเจริญแข่งขันของเชื้อรา *Trichoderma* sp. กับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*

ก. ซ้าย : ขนาดและลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่เจริญตามปกติในจานควบคุม (Control) ขวา : ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่ถูกเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S27-1) เจริญปกคลุมและยับยั้งการเจริญ

ข. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเนื่องจากถูกเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S40-2) เจริญปกคลุมและยับยั้งการเจริญ

ค. การสร้างสปอร์อย่างหนาแน่นของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S27-1) บนโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10.2 การเป็นไมโคพาราสิต (mycoparasitism)

จากการทดลองพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลทจากจำนวน 11 ไอโซเลท คือ S27-1, S73-1 และ R1-1 มีคุณสมบัติเป็นไมโคพาราสิตกับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* อย่างเด่นชัด โดยเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp.ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถแทงทะลุเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* (ภาพที่ 4.10ก) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอโซเลท R1-1 ที่สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปเจริญใน zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* (ภาพที่ 4.10ข) ในขณะที่ไอโซเลท S73-1 พบเส้นใยพันรัด zoosporangium อยู่ภายนอกอย่างหนาแน่นร่วมด้วย และยังพบไอโซเลท S5-1, S40-2, TISTR3080 และ TISTR3331 อาจมีคุณสมบัติเป็นปรสิต โดยไอโซเลท S5-1 พบเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอก (ภาพที่ 4.10ค) ไอโซเลท 40-2 พบเส้นใยพันรัด zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอกอย่างหนาแน่น (ภาพที่ 4.10ง) ไอโซเลท TISTR3080 และ TISTR3331 สามารถย่อยสลายผนังเซลล์เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* คาดว่าเกิดจาก extracellular enzyme ที่สร้างโดยเชื้อราทั้งสองไอโซเลท (ภาพที่ 4.10จ)ส่วนไอโซเลทอื่น ๆ ไม่พบคุณสมบัติการเป็นปรสิต

4.10.3 การสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค (Antibiosis)

จากการทดสอบพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลทคือ R1-1, TISTR3080 และ TISTR3331 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.11) ส่วนไอโซเลทอื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ที่ต่ำกว่า (ตารางที่ 4.9) และพบเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S5-1 และ S27-1 ไม่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* แต่กลับทำให้เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เจริญได้ดีกว่าจานเพาะเชื้อควบคุม

4.10.4 การย่อยสลายเซลลูโลส (cellulose degradation)

จากการทดสอบพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท R1-1 มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงสุด โดยวัดความกว้างแถบใสใต้ผิวหน้าอาหารได้ 17.9 มิลลิเมตร ภายหลังบ่มเชื้อได้ 2 สัปดาห์ ในขณะที่ ไอโซเลท S27-1, TISTR3331 และ TISTR3080 วัดความกว้างแถบใสใต้ผิวหน้าอาหารได้ 16.6, 16.5 และ 15.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12) ส่วนไอโซเลทอื่นๆ วัดความกว้างแถบใสใต้ผิวหน้าอาหารได้ ต่ำกว่า 15 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.10)

4.11 ผลการจำแนกสปีชีส์ (species) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้

เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินปลูกและจากรากของต้นโป๊ยเซียน เมื่อทำการจำแนกสปีชีส์ สามารถจัดจำแนกไอโซเลท S5-1, S33-1, S36-1, S63-1, S73-1,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* อายุเชื้อ 4 วัน ในการทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp.	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (มม.)[1/]	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
S5-1	33.26	-36.32
S27-1	40.20	-73.77
S36-1	12.66	74.85
S40-1	17.60	48.19
S40-2	11.52	81.00
S73-1	18.20	44.95
R1-1	8.00	100.00
R18-1	15.13	61.52
TISTR3080	8.00	100.00
TISIR3331	8.00	100.00
KU	13.46	70.53
จานควบคุม[2/]	26.53	0.00

[1/] คิดจากค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

[2/] เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

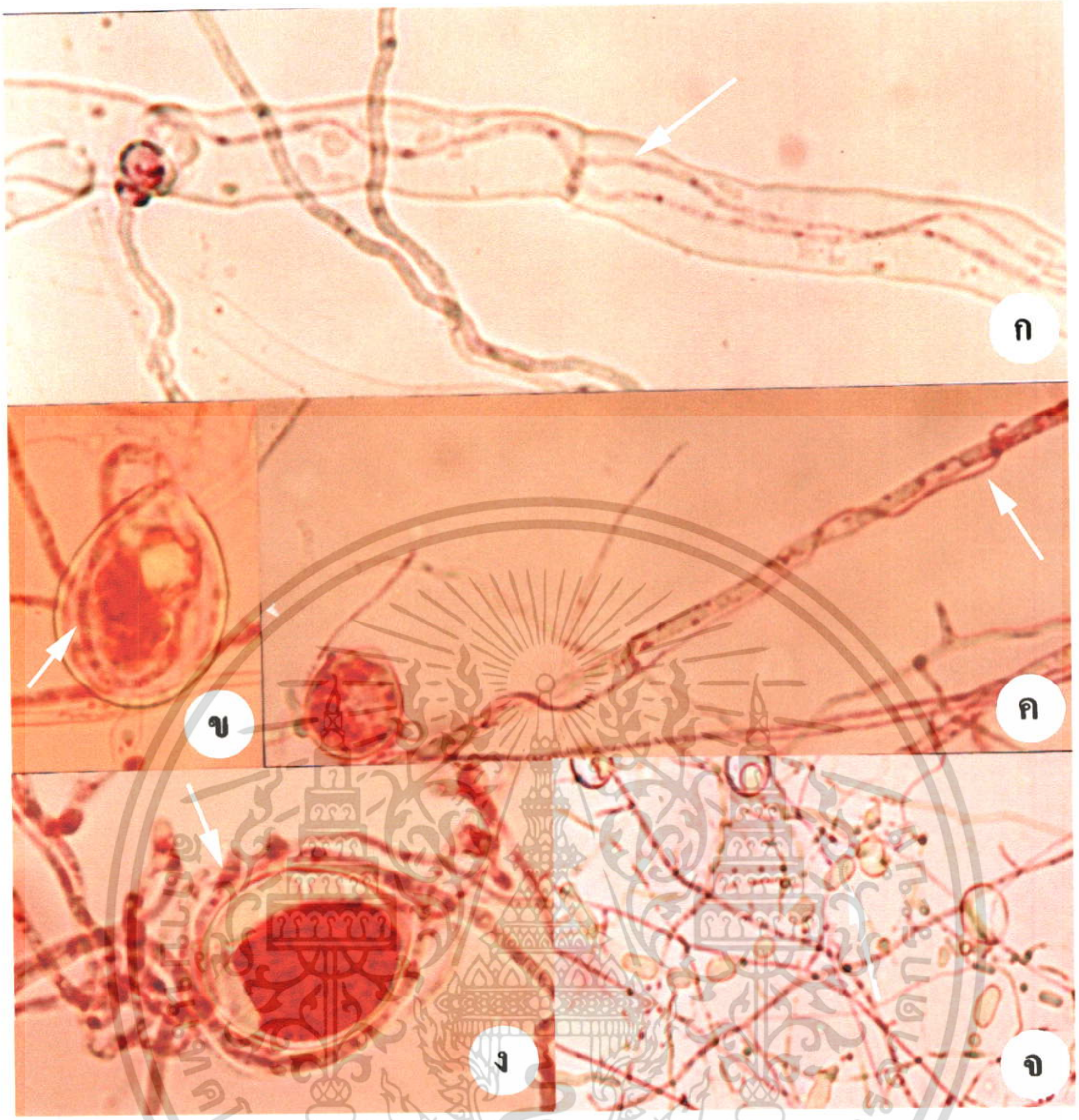
ตารางที่ 4.10 ความกว้างของแถบใสใต้ผิวหน้าอาหารสังเคราะห์ที่เกิดจากการใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อรา *Trichoderma* spp. หลังจากปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์

ไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* spp.	ขนาดความกว้างของแถบใส (มม.)[1/]
S5-1	14.6
S27-1	16.6
S36-1	10.7
S40-1	10.2
S40-2	8.3
S73-1	12.6
R1-1	17.9
R18-1	7.6
TISTR3080	15.0
TISIR3331	16.5
KU	10.2

[1/] คิดจากค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 การเป็นไมโคพาราสิตของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* สาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

ก. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S27-1) แทงทะลุเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

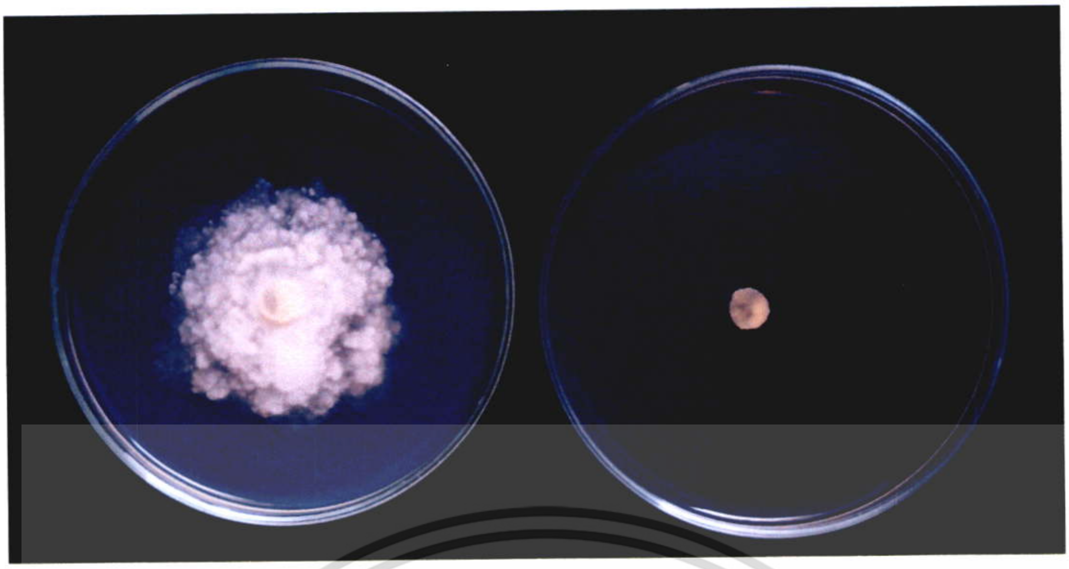
ข. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท R1-1) แทงทะลุเข้าไปเจริญใน zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

ค. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S5-1) พันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอก

ง. เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S40-2) พันรัด zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอกอย่างหนาแน่น

จ. ผนังเซลล์เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ถูกย่อยสลายโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท TISTR3080

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.11 การทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* sp. หลังบ่มเชื้อ 7 วัน
ซ้าย : ขนาดโคโลนีของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในจานเพาะเชื้อควบคุม
ขวา : mycelial disc ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ถูกยับยั้งการเจริญอย่างสมบูรณ์ด้วยสารปฏิชีวนะที่ เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท R1-1 สร้างขึ้น

ภาพที่ 4.12 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนอาหารสังเคราะห์ที่มีเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนจะเกิดลักษณะแถบใสใต้ผิวหน้าอาหาร หลอดควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อ (ก) หลอดที่ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท S27-1 (ข), R1-1 (ค), TISTR3080 (ง) และ TISTR3331 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S84-1, R1-1 และ R18-1 รวม 8 ไอโซเลท ออกเป็น 5 กลุ่มสปีชีส์ และอีก 6 ไอโซเลทไม่สามารถจัดจำแนกได้ คือ S11-1, S27-1, S38-1, S38-2, S40-1 และ S40-2 โดยมีลักษณะที่สำคัญของแต่ละสปีชีส์ดังต่อไปนี้

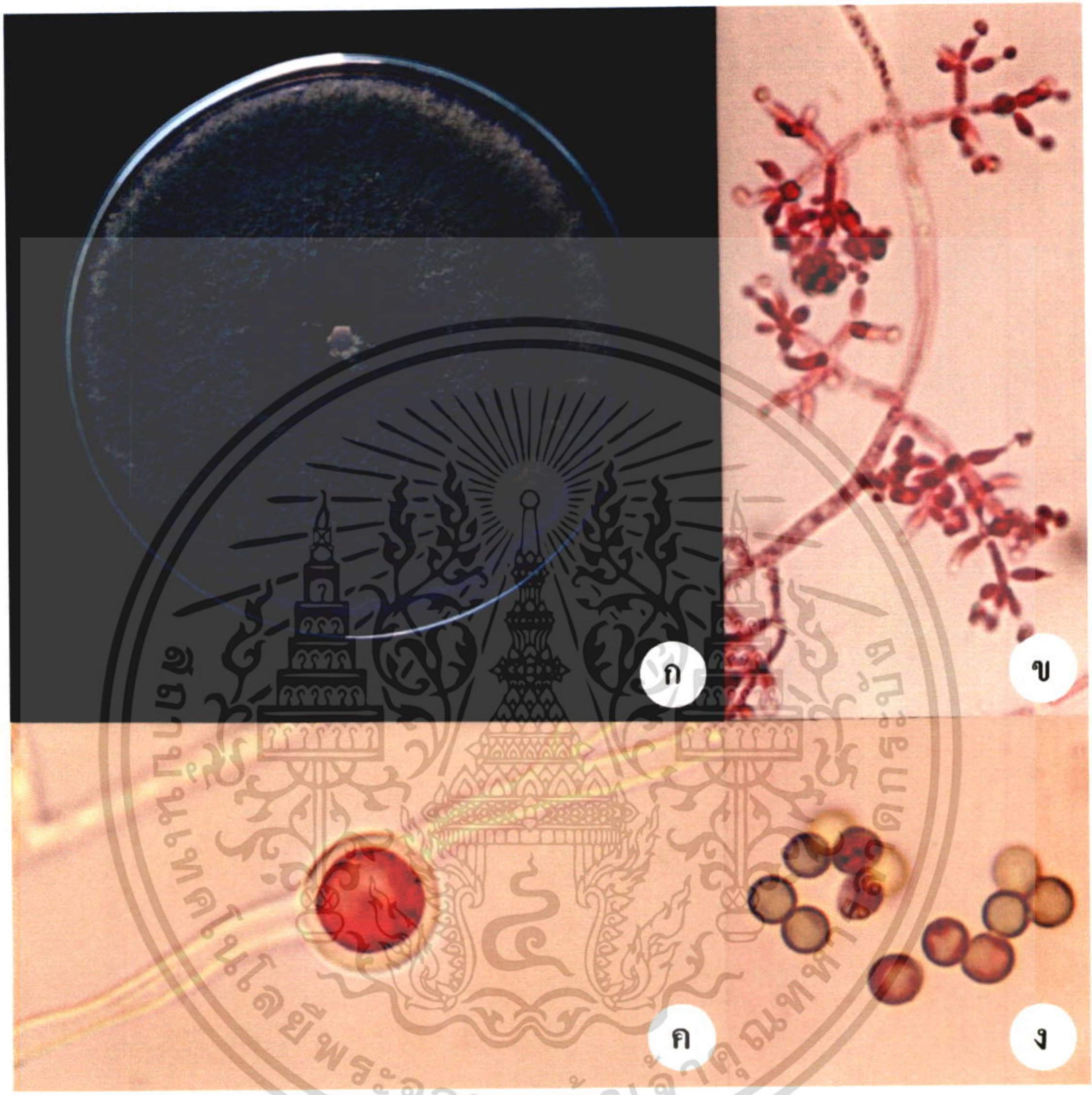
1) *Trichoderma atroviride* Karsten (ภาพที่ 4.13) พบ 2 ไอโซเลทคือ S5-1 และ S73-1 ลักษณะสำคัญของสปีชีส์นี้คือ โคโลนีสีเขียวเข้ม มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว เส้นผ่าศูนย์กลาง 8-9 เซนติเมตรหลังบ่มที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน conidiophore มีการแตกกิ่งด้านข้างไม่บ่อย สร้าง conidia บน phialide เรียก conidia นั้นว่า phialospore phialide มีการจัดเรียงเป็นช่อ มีจำนวน 2-3 อันต่อช่อแต่ phialide ที่ปลายสุดของ conidiophore มักมี phialide อันเดียว phialospore สีเขียวเข้ม ผิวเรียบ มีรูปร่างคล้าย *T. harzianum* คือ subglobose ถึง globose แต่มีขนาดที่ใหญ่กว่า คือ (2.6 - 3.8) x (2.2 - 3.4) ไมโครเมตร (เฉลี่ย 3.2 x 2.9 ไมโครเมตร) ในขณะที่ *T. harzianum* มีขนาดที่เล็กกว่า (เฉลี่ย 2.4 x 1.9 ไมโครเมตร)

2) *Trichoderma aureoviride* Rifai (ภาพที่ 4.14) พบ 2 ไอโซเลทคือ S36-1 และ R18-1 ลักษณะที่สำคัญของสปีชีส์นี้คือ โคโลนีมีสีค่อนข้างเหลืองปนเขียว และเมื่อเจริญบนอาหารมักทำให้อาหารเปลี่ยนสี phialospore หรือ conidia สีเขียว ผิวเรียบ ส่วนใหญ่มีรูปร่าง obovoid ขนาด 2.6 - 5 x 2 - 3.2 ไมโครเมตร

3) *Trichoderma koningii* Oudemans (ภาพที่ 4.15) พบ 1 ไอโซเลทคือ R1-1 ลักษณะที่สำคัญของสปีชีส์นี้คือ โคโลนีมีสีขาวและเมื่อสร้าง phialospore จะเริ่มมีสีเขียวปนขาว และเปลี่ยนเป็นสีเขียวในที่สุด มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 9 เซนติเมตร หลังจากบ่มเชื้อนาน 4 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไม่พบการสร้างเม็ดสีขณะเจริญบนอาหาร PDA มี conidiophore ลักษณะผอมยาวและโค้งงอ มีการแตกกิ่งก้านด้านข้างเล็กน้อย conidiophore เป็นแบบ *koningii*-type รูปร่างของ phialides เป็นแบบ nine-pin-shape มีจำนวน phialide ต่อช่อตั้งแต่ 1-5 phialide และ phialospore มีรูปร่างเป็นแบบ obovoid-ellipsoidal บางครั้งอาจถึง oblong ขนาด 3 - 4.8 x 1.9 - 2.89 ไมโครเมตร มีสีเขียว ผิวเรียบ

4) *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) von Arx (ภาพที่ 4.16) พบ 1 ไอโซเลท คือ S63-1 ลักษณะสำคัญของสปีชีส์นี้คือ มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 9 เซนติเมตรหลังบ่มที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบ aerial mycelium เป็นปุยเหมือนฝ้ายสีขาวถึงค่อนข้างเทา การแตกกิ่งก้านของ conidiophore คล้าย *Gliocladium virens* แต่ phialide มีขนาดที่สั้นกว่าและจัดเรียงตัวที่ห่างกว่า สร้าง conidia ปกคลุมผิวหน้าเหมือนฝ้า สีเขียวเขียวแกมน้ำเงินอ่อนถึงเขียวเข้ม รูปร่าง broadly ellipsoidal ขนาด 2.5 - 3.4 x 1.9 - 2.3 ไมโครเมตร (เฉลี่ย 3.0 - 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 เชื้อรา *Trichoderma atroviride* Karsten ไอโซเลท S5-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

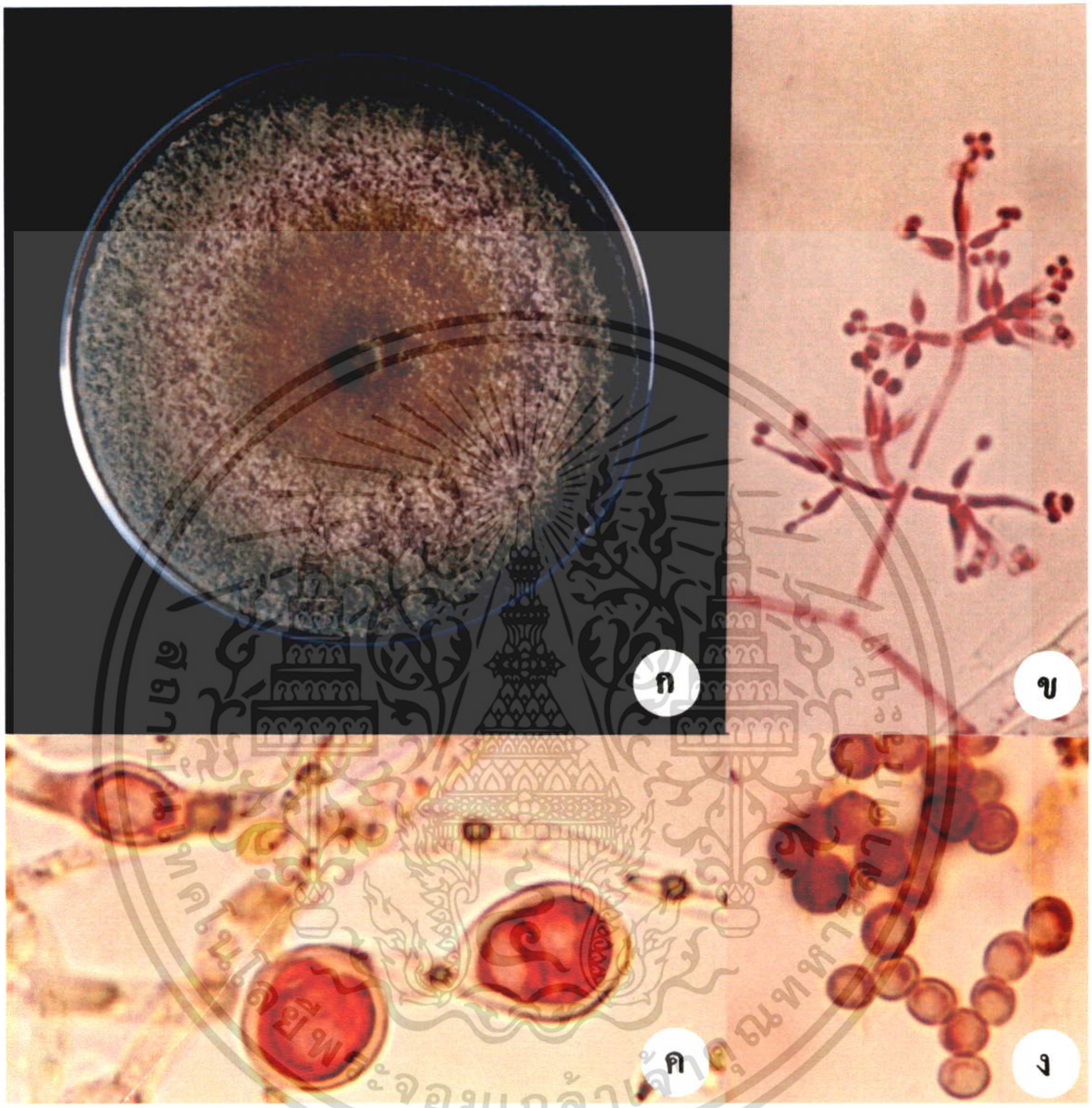
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospore

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 เชื้อรา *Trichoderma aureoviride* Rifai ไอโซเลท S36-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

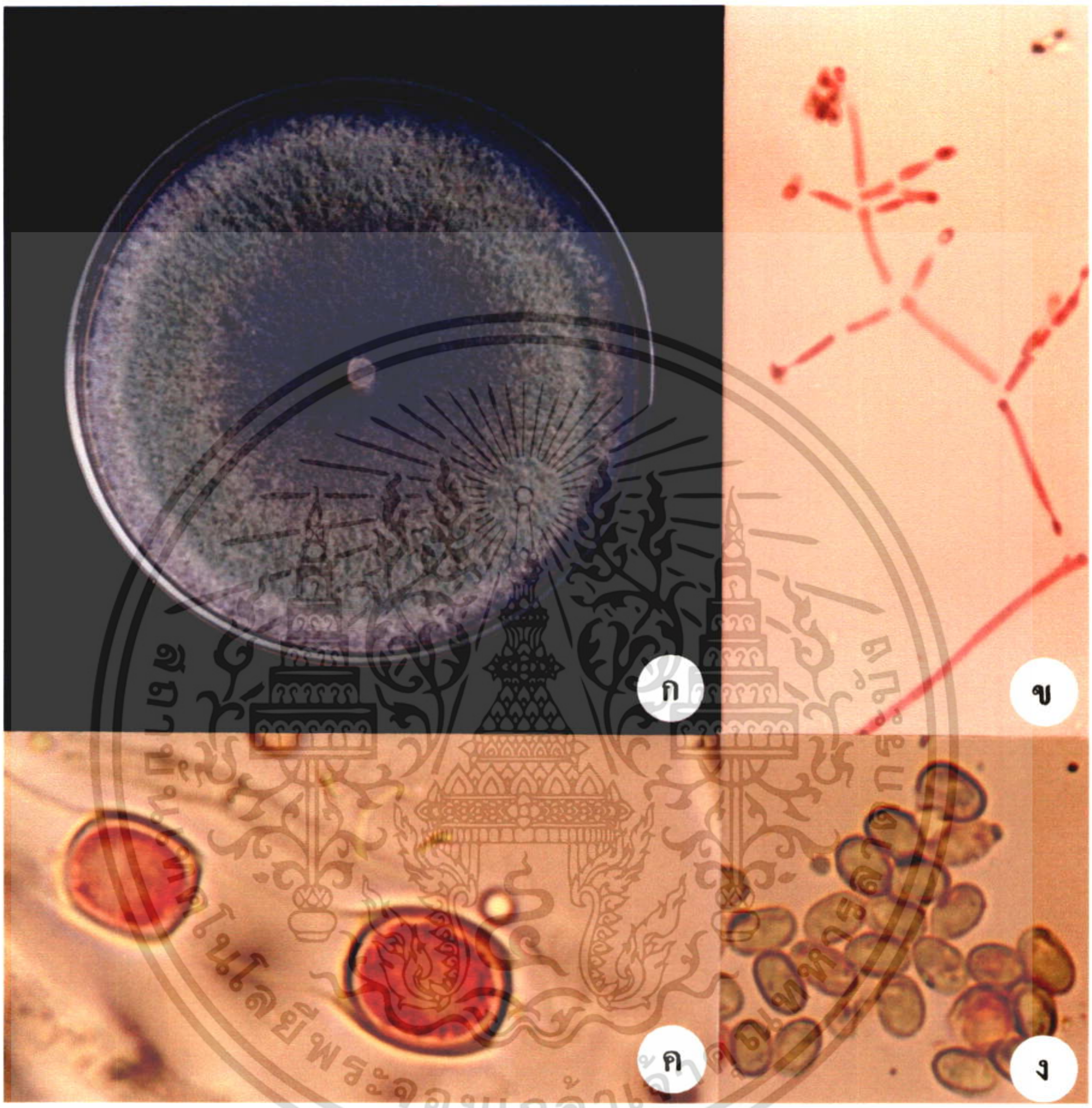
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 เชื้อรา *Trichoderma koningii* Oudemans ไอโซเลท R1-1 ที่แยกได้จากรากของต้นโป๊ยเซียน

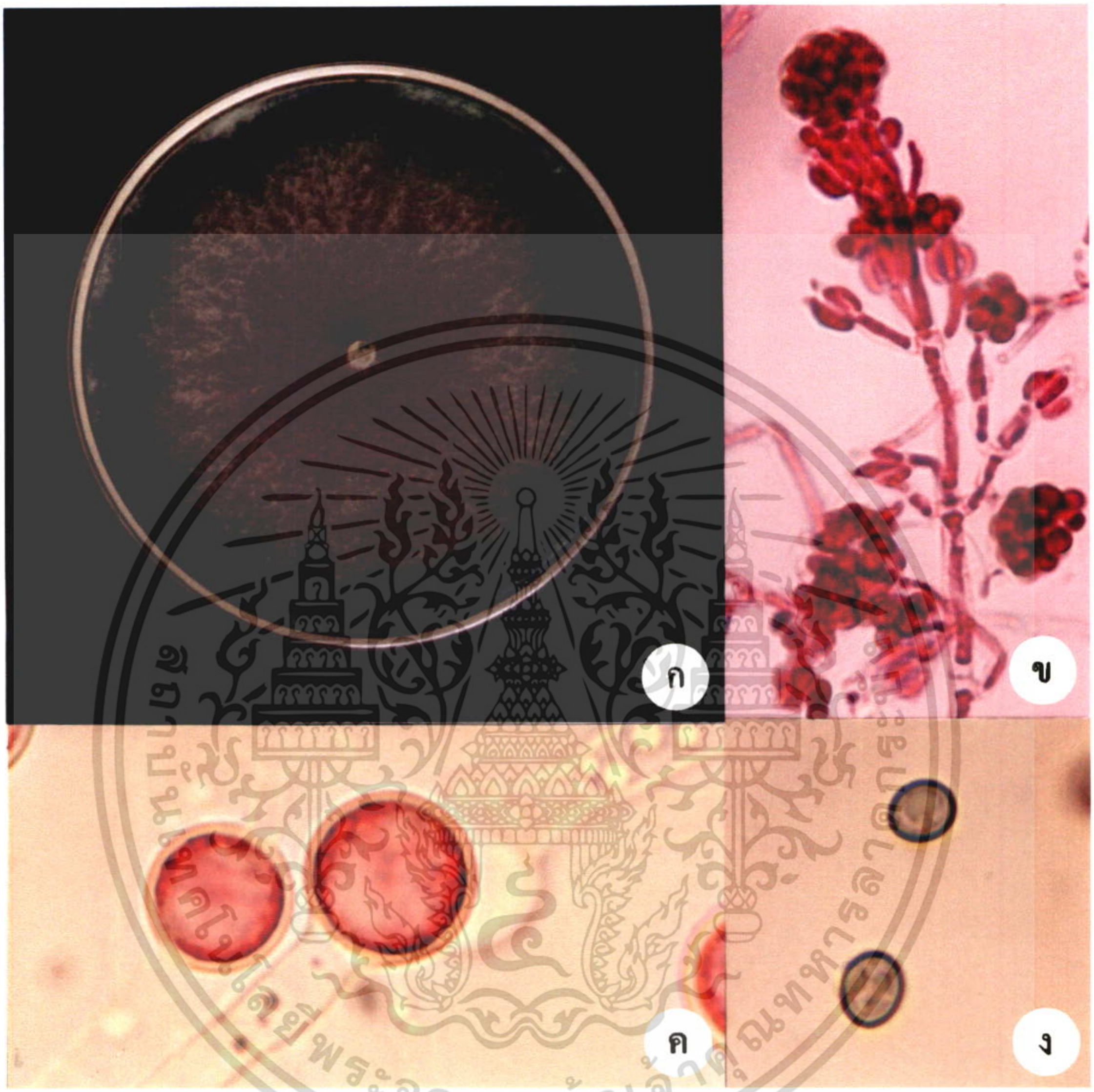
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 เชื้อรา *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) von Arx ไอโซเลท S63-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray (ภาพที่ 4.17) พบ 2 ไอโซเลทคือ S33-1และ S84-1 ลักษณะที่สำคัญของสปีชีส์นี้คือ มีระบบการแตกกิ่งและการวางตำแหน่งของ phialide เป็นแบบ *viride*-type โคโลนีมีการสร้าง conidia เป็นบริเวณรูปวงแหวน conidiophore สร้างเป็นปอยหรือปุย กระจายบนโคโลนี conidia มีทั้งผิวเรียบและขรุขระ รูปร่าง globose ถึง short obovoid บางครั้งอาจถึง broadly ellipsoidal ขนาด 4-4.8 x 3.5-4 ไมโครเมตร

6) *Trichoderma* sp. พบ 6 ไอโซเลทคือ S11-1, S27-1, S38-1, S38-2, S40-1 และ S40-2 เนื่องจากไม่สามารถจัดจำแนกได้ มีลักษณะบางประการที่ไม่สามารถจัดเข้ากับสปีชีส์ใด ๆ ได้ โดยไอโซเลท S11-1 (ภาพที่ 4.18) มีลักษณะคล้าย *T.* anamorph of *Hypocrea gelatinosa* (Tode : Fr.) Fr. แต่มีการเจริญของโคโลนีรวดเร็วกว่า การสร้างเม็ดสีพบน้อยมากหรือเกือบจะไม่สร้างเลย และ conidia มีรูปร่างที่กลมกว่า ไอโซเลท S27-1 (ภาพที่ 4.19) มีลักษณะคล้าย *T. atroviride* แต่มีขนาด conidia เล็กกว่า แต่ก็ไม่เล็กพอที่จะจัดให้อยู่ใน *T. harzinum* ไอโซเลท S38-1(ภาพที่ 4.20), S38-2 และ S40-1 (ภาพที่ 4.21) มีระบบการแตกกิ่งและการวางตำแหน่งของ phialide เป็นแบบ *viride*-type แต่มีลักษณะหลายประการที่ไม่สามารถจัดให้อยู่ใน *T. viride* ได้ ซึ่งไอโซเลท S38-1 และ S38-2 มีลักษณะสันฐานเหมือนกันทุกประการคาดว่าเป็นสปีชีส์เดียวกัน ไอโซเลท S40-2 (ภาพที่ 4.22) มีลักษณะคล้าย *T.* anamorph of *Hypocrea* sp. คือ มีลักษณะสำคัญคือ phialide มีรูปร่าง cylindrical ถึง lageniform ไม่พบการแตกกิ่งก้านด้านข้างหรือพบเล็กน้อย ลักษณะคล้าย *Verticillium* จึงจัดจำแนกอยู่ใน section *Hypocreanum* แต่เนื่องจากรายละเอียดของเชื้อรา *Trichoderma* ใน section นี้มีรายละเอียดไม่มากพอจึงไม่สามารถจัดจำแนกถึงระดับสปีชีส์ได้

4.12 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae var. parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง

4.12.1 การเตรียมกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae var. parasitica* ที่ใช้ทดสอบ

นำทรายที่มีข้าวโอ๊ตผสมอยู่ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มาทดสอบเพื่อคัดเลือกเปอร์เซ็นต์ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* โดยพิจารณาจากลักษณะของทรายผสมข้าวโอ๊ตหลังจากมีการเติมน้ำ พบว่าที่ระดับความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็นระดับความชื้นที่เหมาะสมที่สุด ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 4.11 โดยทรายที่ผสมข้าวโอ๊ตสามารถคงตัวเป็นก้อนได้เมื่อใช้มือกำไม่พบน้ำส่วนเกินไหลเยิ้มออกมาตามง่ามนิ้วมือ เมื่อปลูกเชื้อรา *P. nicotianae var. parasitica* ในรูป mycelial disc ลงบนทรายผสมข้าวโอ๊ตที่ระดับความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* สามารถเจริญได้เป็นอย่างดีโดยสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมทรายผสมอย่างหนาแน่นโดยทั่วทั้งด้านบนตลอดจนบริเวณก้นถุง (ภาพที่ 4.23ก)

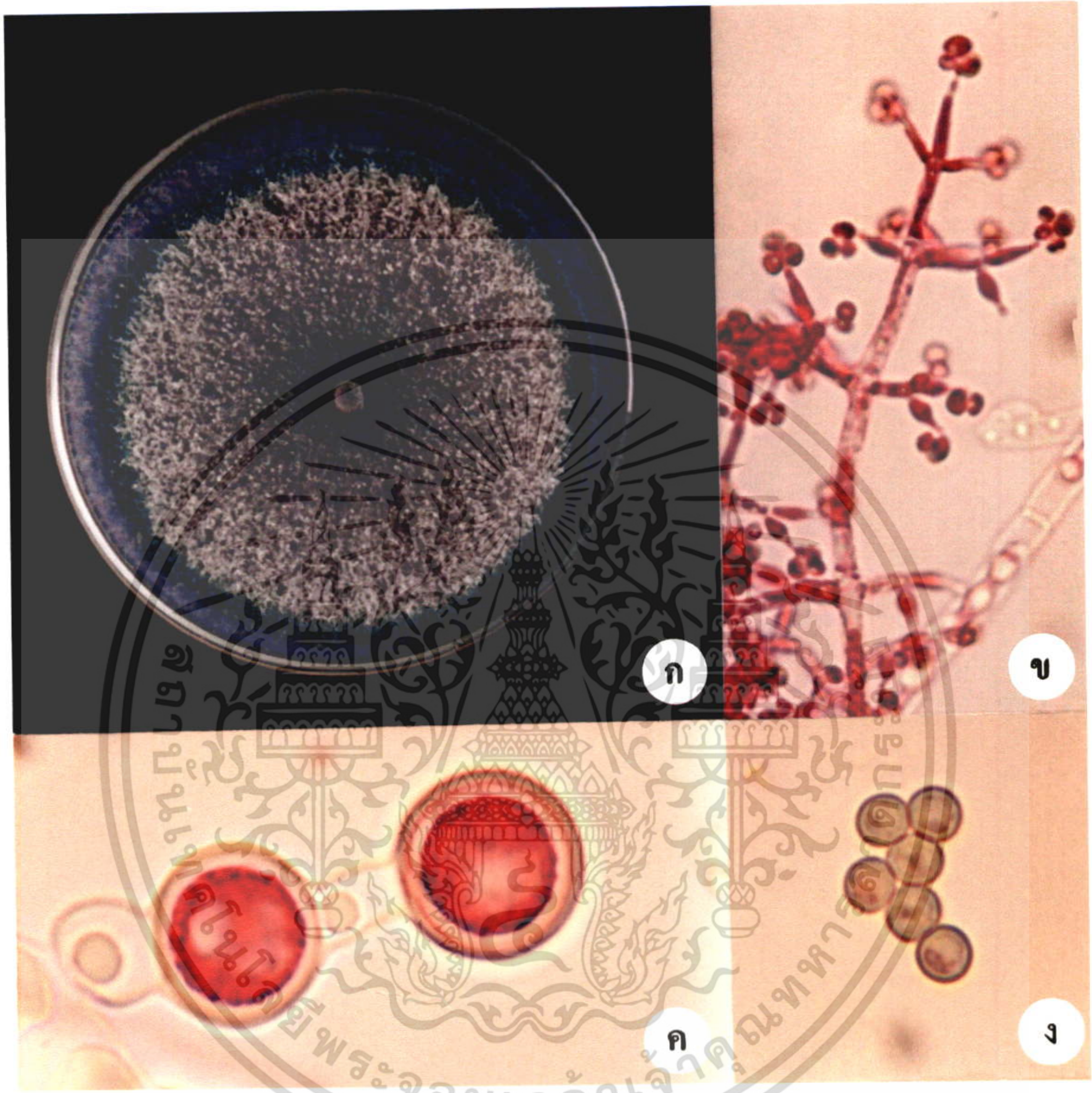
เอกสารนี้... เพื่อการศึกษาเท่านั้น ... ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การคงตัวของทรายผสมที่เติมน้ำเพื่อปรับระดับความชื้นต่าง ๆ

เปอร์เซ็นต์ความชื้นโดยน้ำหนัก	ลักษณะเนื้อสัมผัสของทรายผสม
10 %	ค่อนข้างแห้ง ร่วน ไม่สามารถกำให้เป็นก้อนได้
20 %	สามารถกำให้เป็นก้อนได้และไม่มีน้ำเยิ้มตามง่ามนิ้วมือ
30 %	เมื่อกำจะมีน้ำส่วนเกินไหลเยิ้มตามง่ามนิ้วมือ
40 %	ค่อนข้างเหลว ไม่สามารถกำได้ มีน้ำมากเกินคล้ายดินโคลน

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.17 เชื้อรา *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray ไอโซเลท S84-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

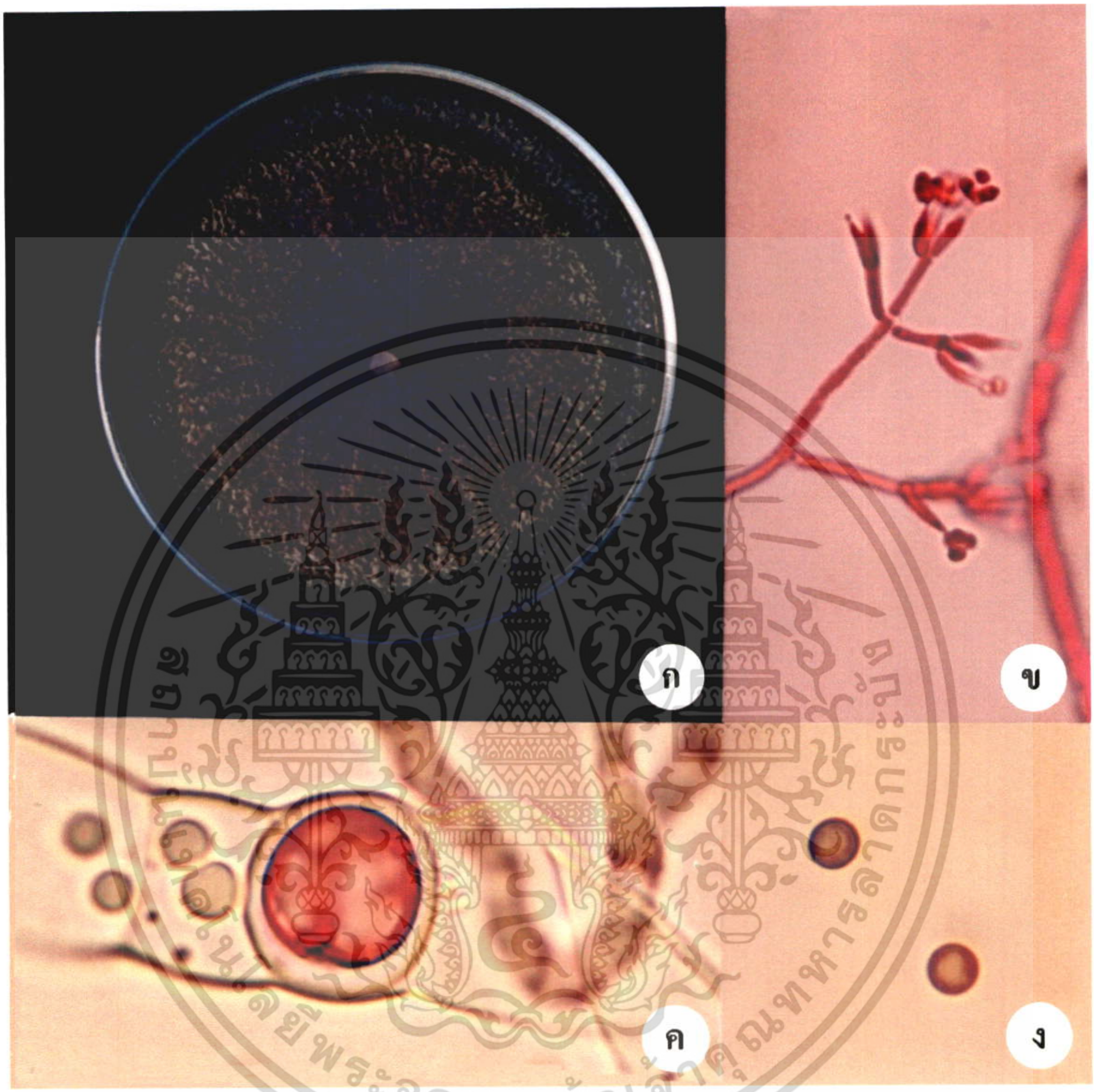
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S11-1 ที่มีลักษณะคล้าย *Trichoderma* anamorph of *Hypocrea gelatinosa* (Tode : Fr.) Fr. แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

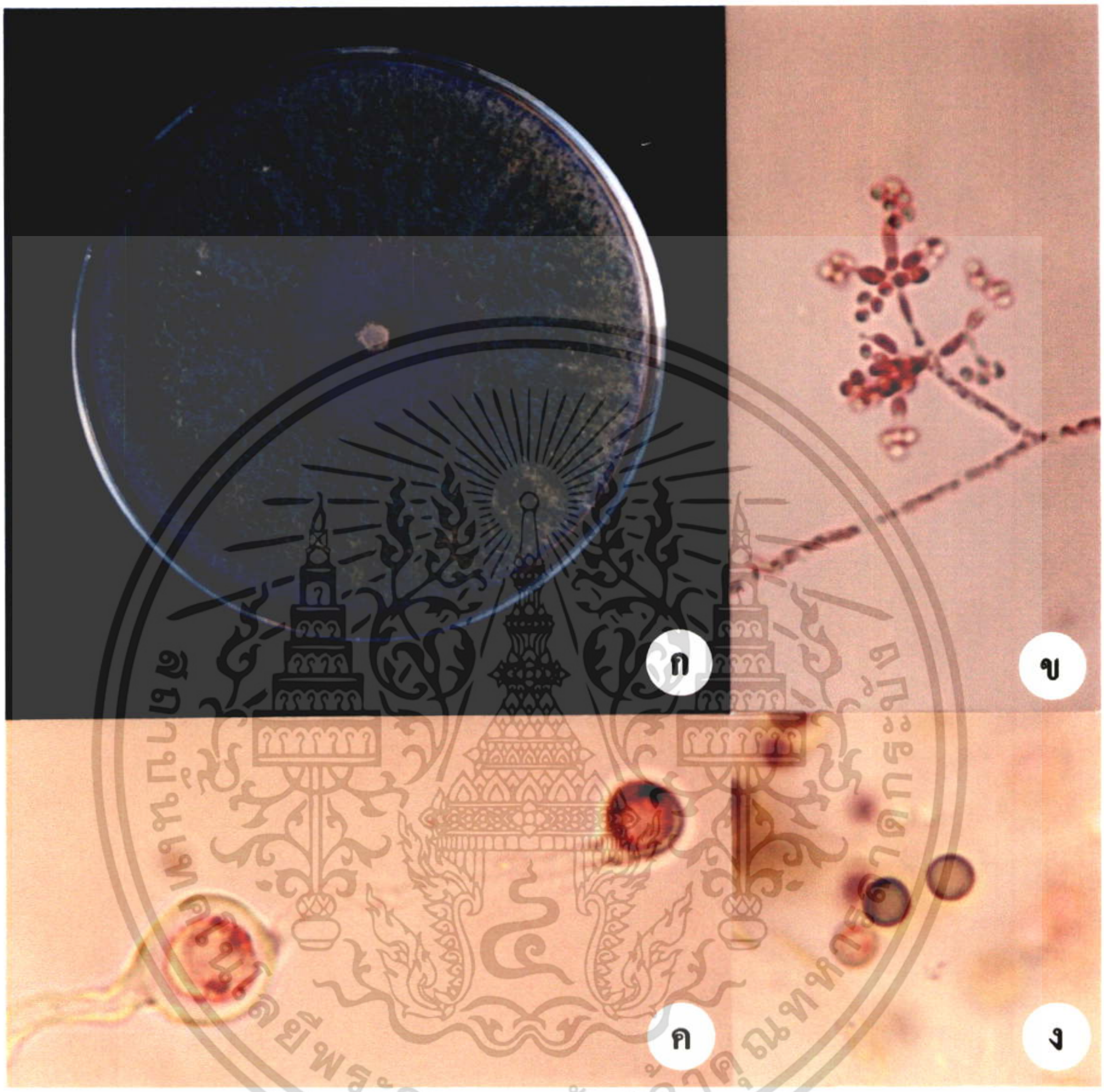
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospore

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S27-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

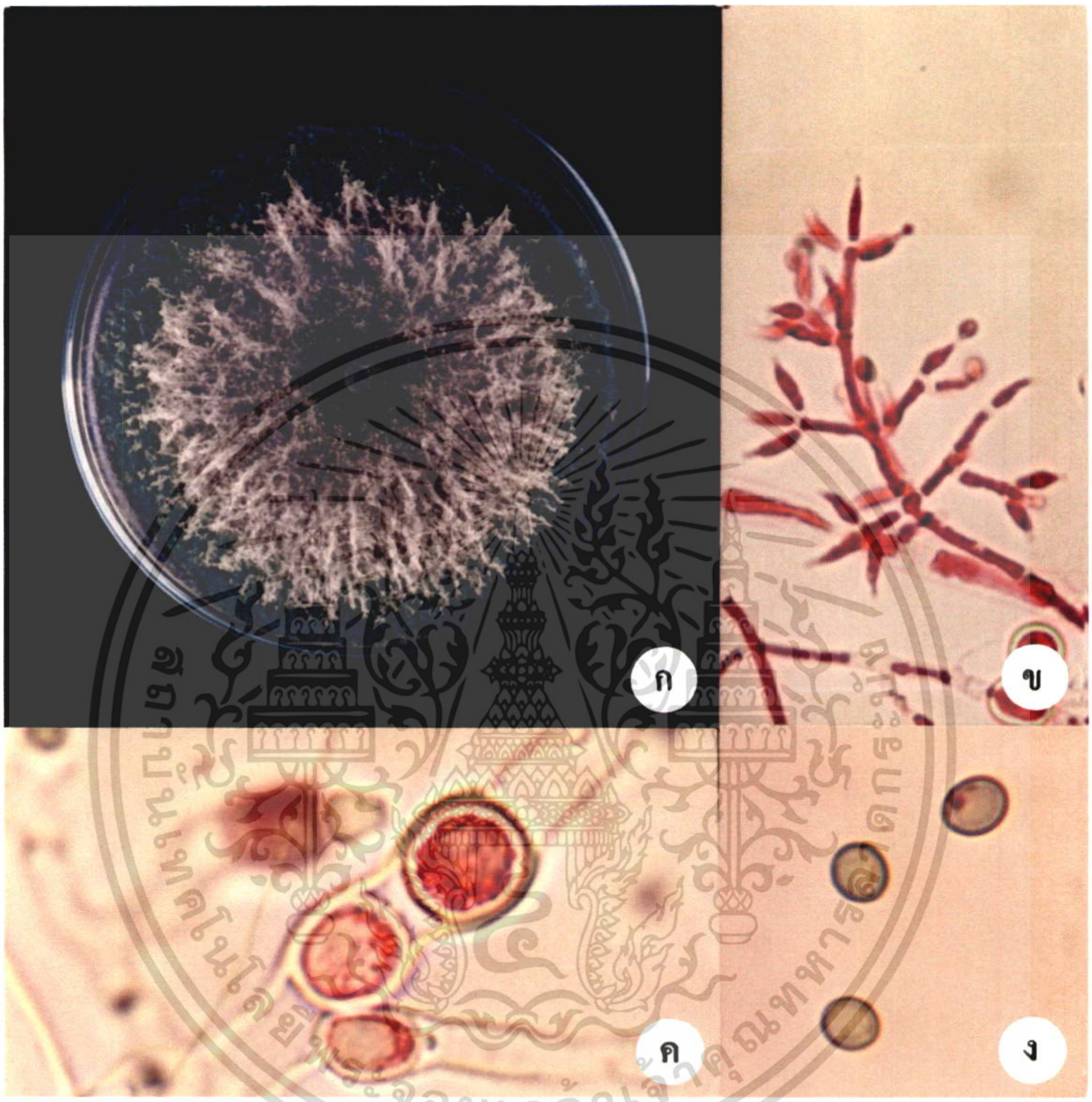
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S38-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

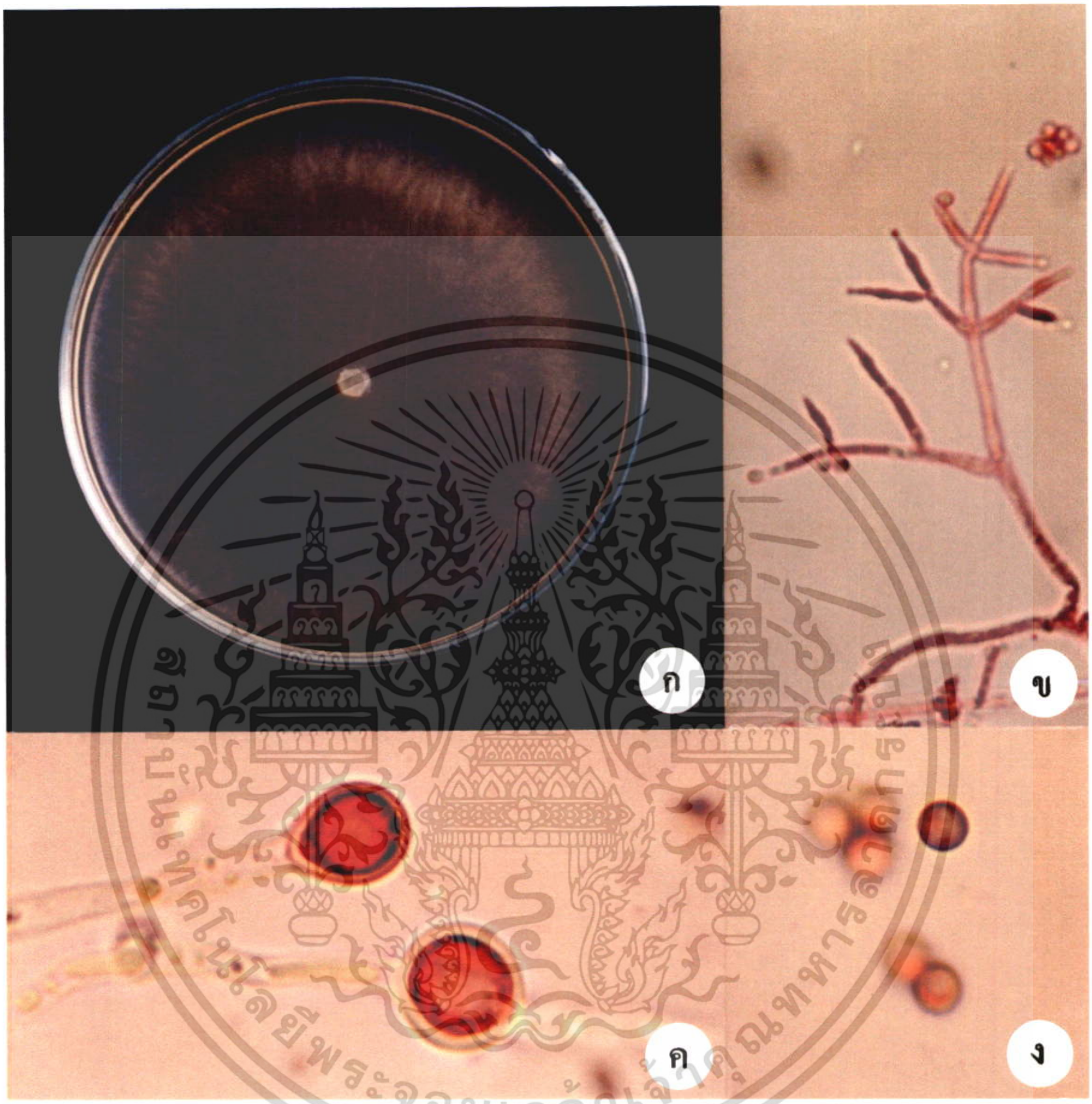
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.21 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S40-1 ที่แยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียน

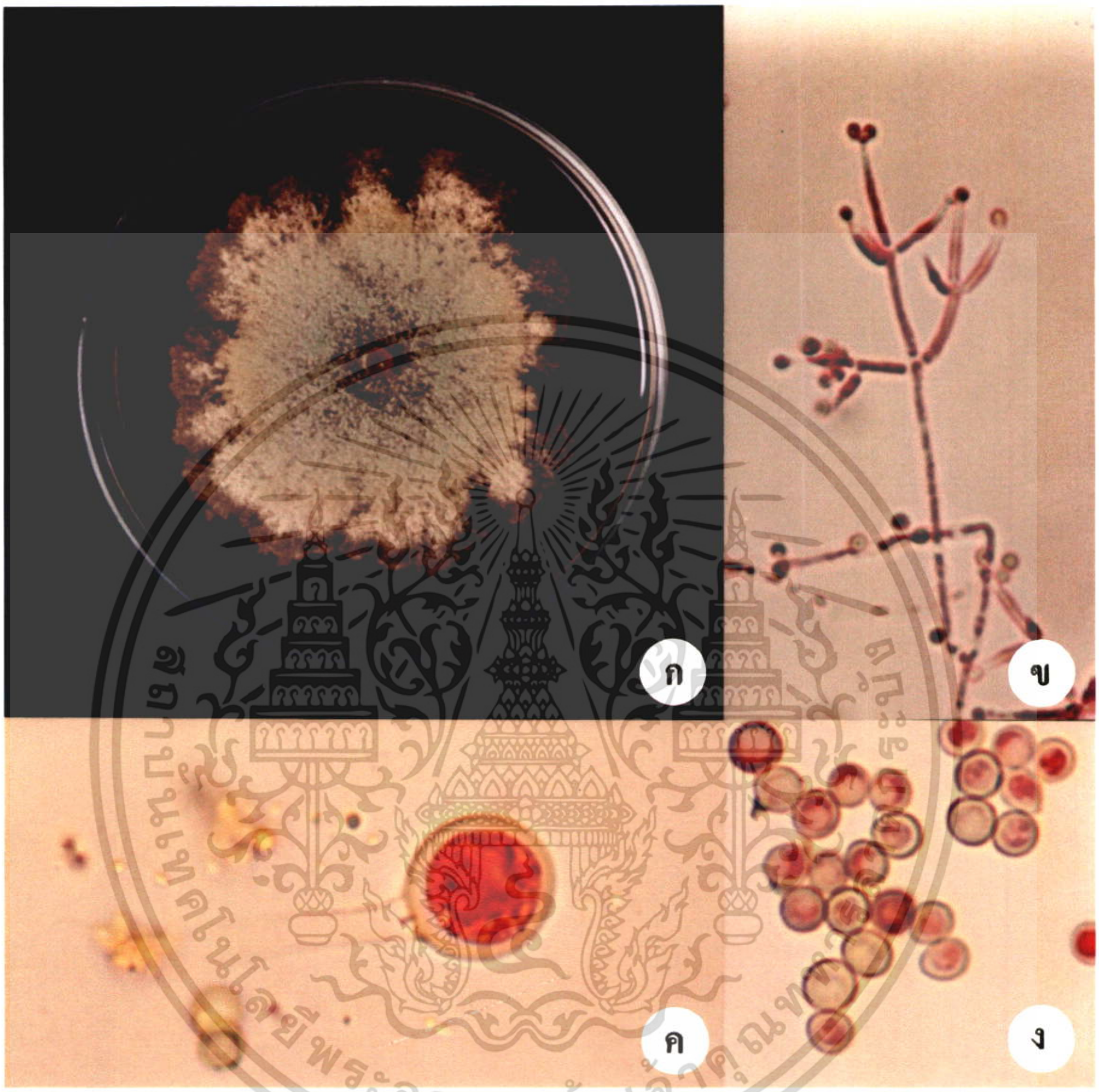
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospores

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.22 เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท S40-2 ซึ่งแยกได้จากดินปลูกต้นโป๊ยเซียนมีลักษณะคล้าย *Verticillium* จึงจัดจำแนกอยู่ใน section *Hypocreanum*

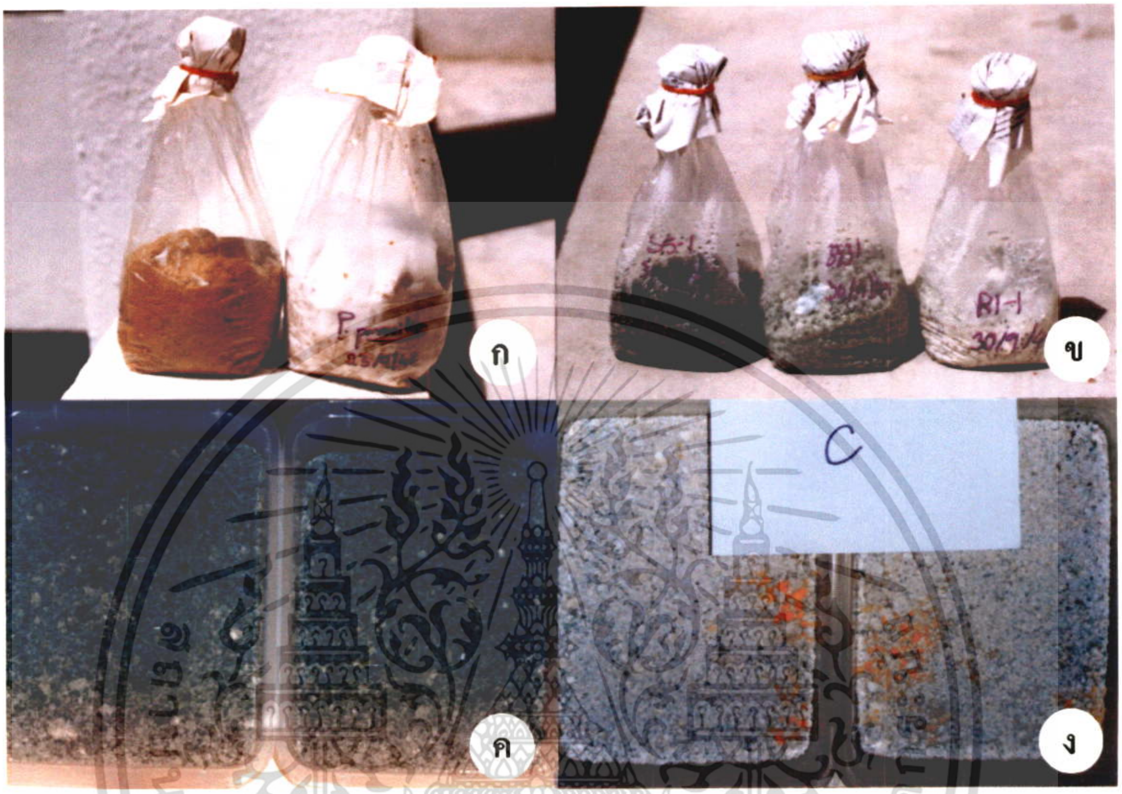
ก. โคโลนีเชื้อราเจริญบน malt extract agar อายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

ข. conidiophores และ phialides

ค. chlamydospore

ง. phialospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.23 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง

ก. ลักษณะทรายผสมข้าวโอ๊ต 5 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับความชื้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้เป็นวัสดุเพาะเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ซ้าย : ทรายผสมก่อนปลูกเชื้อ ขวา : ทรายผสมหลังปลูกเชื้อ 14 วัน

ข. ลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* spp. เมื่อเจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง ซ้าย : ไอโซเลท S5-1 กลาง : ไอโซเลท TISTR3331 ขวา : ไอโซเลท R1-1

ค. ลักษณะ diatomaceous earth ผสมที่เตรียมได้ขณะทำแห้งโดยการผึ่งในที่ร่มที่มีส่วนผสมของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* sp. (ไอโซเลท S5-1) มีลักษณะปกติ

ง. ลักษณะ diatomaceous earth ผสมที่เตรียมได้ขณะทำแห้งโดยการผึ่งในที่ร่มที่ไม่มีส่วนผสมของสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีการปนเปื้อนเชื้อราจากอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.12.2 การเตรียมกล้าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ใช้ทดสอบ

จากการคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและจากรากของต้นโป๊ยเซียนและจากแหล่งอื่น รวม 19 ไอโซเลท เพื่อใช้ควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน โดยพิจารณาจากคุณสมบัติไม่ก่อโรคและกลไกที่ใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 3 ข้อ คือ การเจริญแข่งขัน การเป็นไมโครพาราสิต และการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* กับอีก 1 คุณสมบัติ คือ การย่อยสลายเซลลูโลส พบว่าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 มีคุณสมบัติไม่ก่อโรคและมีกลไกที่ใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครบทั้งสามข้อและสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีเด่นกว่าไอโซเลทอื่น จึงได้คัดเลือกเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 ที่มีลักษณะด้อยกว่าในบางประการโดยเฉพาะกลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ เพื่อศึกษาความสำคัญของกลไกที่ใช้ควบคุมโรคของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน

จากการเพิ่มจำนวนเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งสองไอโซเลทโดยเลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 มีการสร้างสปอร์สีเขียวเข้มปกคลุมเมล็ดข้าวฟ่างเป็นจำนวนมาก ส่วนเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 พบเส้นใยสีขาวปกคลุมเมล็ดข้าวฟ่างโดยทั่ว (ภาพที่ 4.23ข) และพบการสร้างสปอร์สีเขียวแต่น้อยกว่าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 อย่างเห็นได้ชัด ขณะนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเส้นใยและสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้งสองไอโซเลทไปบดให้ละเอียดด้วย blender มีข้อสังเกตว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 จะเจริญหุ้มเมล็ดข้าวฟ่างอย่างหนาแน่นจับตัวกันเป็นก้อน ในขณะที่เมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 เจริญอยู่ พบเส้นใยมีลักษณะสั้น ๆ เจริญปกคลุม มีลักษณะจับกันหลวม ๆ ซึ่งเมื่อใช้มือบีบเมล็ดข้างฟ่างจะแยกออกจากกันโดยง่าย หลังจากขั้นตอนการบดและผสมกับผง diatomaceous earth แล้วนำส่วนผสมที่ได้ไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 2 ไอโซเลทยังสามารถเจริญและสร้างสปอร์เพิ่มเติม โดยเจริญปกคลุมผิวหน้าของ diatomaceous earth (ภาพที่ 4.23ค) ส่วน diatomaceous earth ที่ผสมเมล็ดข้าวฟ่างบดที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งเตรียมไว้สำหรับจะใช้ในกรรมวิธีควบคุมในการทดลองข้อ 4.12.4 พบการปนเปื้อนของเชื้อราจากอากาศเป็นอย่างมาก (ภาพที่ 4.23ง) จึงต้องใช้ diatomaceous earth ที่ไม่มีการผสมเมล็ดข้าวฟ่างแทน

กล้าเชื้อรา *Trichoderma atroviride* ไอโซเลท S5-1 ที่เตรียมได้จะมีสีเขียวเข้มกว่ากล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 เนื่องจากสีของสปอร์ที่มีสีเขียวเข้มกว่าและปริมาณสปอร์ที่สร้างได้มากกว่า แต่เมื่อทำการตรวจนับจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตของกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 2 โดยวิธี total plate count ด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร Martin's medium (ภาคผนวก ก.) พบว่าหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลิตผงเชื้อและเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 5 สัปดาห์ กล้าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 มีจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตน้อยกว่ากล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 คือพบว่ามีเพียง 4.3 x 10^5 cfu (colony forming unit) ต่อกรัม ในขณะที่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 พบถึง 2.2 x 10^7 cfu ต่อกรัม

4.12.3 การทดสอบหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินปลูก

เมื่อนำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมมาทำการปักชำในดินที่มีส่วนผสมของกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูที่ฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 โดยน้ำหนัก พบว่าทุกอัตราส่วนสามารถทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนจะตายภายหลังที่ปักชำประมาณ 7 วัน (ตารางที่ 4.12 และ ภาพที่ 4.24ก) และเมื่อทำการแยกเชื้อซ้ำ พบว่าเป็นเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ชนิดเดียวกันกับที่ใช้ผสมในดิน นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อราจากอากาศหลายชนิดในดินที่มีการปลูกเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ทุกอัตราส่วน และพบเชื้อรา *Trichoderma* sp. ปนเปื้อนเป็นจำนวนมากร่วมอยู่ด้วย (ภาพที่ 4.24ข) จากอัตราส่วน 1:8 ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับดินใบก้ามปูที่ใช้ปลูกต้นโป๊ยเซียนมากกว่าอัตราส่วนอื่น และสามารถทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จึงได้คัดเลือกอัตราส่วนผสมของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปู 1:8 โดยน้ำหนัก เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่จะใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

4.12.4 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ในขั้นตอนการปักชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน

เชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุก่อโรค เปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. atroviride*ไอโซเลท S5-1 โดยปักชำกิ่งพันธุ์โป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมในดินที่ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับกล้าเชื้อสาเหตุโรค (TK+Phy และ TA+Phy) และดินที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ใส่แต่กล้าเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว (Phy) โดยมีดินที่ไม่ใส่กล้าเชื้อชนิดใด ๆ เลยเป็นกรรมวิธีควบคุม (Control) หลังปักชำเป็นเวลา 30 วัน พบว่าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 สามารถยับยั้งการเกิดโรคโตนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนได้เป็นอย่างดี (ภาพที่ 4.24ค) โดยกรรมวิธี TK+Phy ที่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 92.86 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 (TA+Phy และ Phy) ซึ่งไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้เลย (ภาพที่ 4.24ง) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ (ภาคผนวก ฉ.) โดยวิเคราะห์แปรปรวน (ตารางผนวกที่ 1 และ 2) และทำ Duncan's multiple range test (DMRT) (ตารางผนวกที่ 3) พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ตารางที่ 4.13) ของกรรมวิธี TK+Phy ที่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 ไม่แตกต่างทางสถิติ (DMRT ที่ 5%) จากค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตายของกรรมวิธีควบคุม (Control) ที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 จำนวนกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยพันธุ์ที่แสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าหลังปักชำในดินที่ใส่กล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ในอัตราส่วนต่าง ๆ หลังปักชำนาน 7 วัน

อัตราส่วนผสม (โดยน้ำหนัก)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย (%)
1:1	100
1:2	100
1:4	100
1:8	100

ตารางที่ 4.13 ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตายและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรค หลังปักชำกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนนาน 30 วันในดินใบก้ามปูที่มีกรรมวิธีปฏิบัติที่แตกต่างกัน

กรรมวิธีที่ใช้[1]	ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตาย	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรค
1. Control	93.33 a[2]	100.00
2. TK+Phy	86.67 a	92.86
3. TA+Phy	0.00 b	0.00
4. Phy	0.00 b	0.00

[1] กรรมวิธีที่ปฏิบัติต่อดินใบก้ามปูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วมีวิธีปฏิบัติดังต่อไปนี้

Control = ไม่ใส่กล้าเชื้อราชนิดใด ๆ เลย

TK+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 และกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

TA+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 และกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ชนิดเดียว

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ 5 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.24 การหาอัตราส่วนผสมของกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูและการทดสอบการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง

ก. อัตราส่วนผสมของกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินใบก้ามปูทุกอัตราส่วนสามารถทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าและกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนตายลงภายหลังที่ปักชำ 7 วัน

ข. แสดงการปนเปื้อนของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จากอากาศบนดินผสมที่ใช้ปักชำ

ค. ต้นโป๊ยเซียนแดงอุดมปกติ (ซ้าย) ในกรรมวิธีที่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ในดินร่วมกับเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เปรียบเทียบกับต้นที่แสดงอาการของโรค (ขวา) ในกรรมวิธีที่ใส่แต่เพียงกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ชนิดเดียว

ง. ต้นโป๊ยเซียนที่ปักชำในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *T. koningii* ร่วมกับเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* (แถวหน้า) และกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ใส่เชื้อใด ๆ เลย (แถวหลัง) มีลักษณะปกติดี ขณะที่ต้นโป๊ยเซียนที่ปักชำในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 ร่วมกับเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* (แถวที่ 2) และกรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เพียงอย่างเดียว (แถวที่ 3) แสดงอาการของโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์

จากการสำรวจอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน พบลักษณะอาการของโรคเช่นเดียวกับที่มีรายงานไว้ในเอกสารการปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียน (ประเสริฐ. 2537 ; ดีพร้อม. 2539 ; ปัญญา. 2540ค) เมื่อทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และจำแนกสกุลเชื้อสาเหตุก่อให้เกิดโรคพบว่าคือเชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นเชื้อราน้ำที่มีการสร้าง zoosporangium และ zoospore เพื่อแพร่พันธุ์ เชื้อรา *Phytophthora* spp. มีแพร่ระบาดโดยน้ำ เช่นน้ำฝน น้ำที่ไหลนองตามพื้นดิน โดยการกระเซ็นของน้ำจากการรดน้ำ ฝุ่นละอองที่ปลิวไปตามส่วนของพืช เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะเข้าทำลายพืชทางรากและโคนต้นเป็นส่วนใหญ่ แต่ลักษณะอาการของโรคแสดงบนส่วนของพืชที่อยู่เหนือระดับดินขึ้นไป (อุบล และคณะ. 2528) สอดคล้องกับการแพร่ระบาดของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนที่มักพบแพร่ระบาดในช่วงที่มีฝนตกหนักติดต่อกันหรือในดินมีความชื้นสูง (ประเสริฐ. 2537 ; ดีพร้อม. 2539 ; ปัญญา. 2540ค) Mitchell and Kannwischer-Mitchell (1992) รายงานว่ามีเชื้อรา *Phytophthora* spp. เพียง 9 สปีชีส์ที่เป็นผู้ย่อยสลายในน้ำ (aquatic saprophyte) แต่ส่วนใหญ่ซึ่งมากกว่า 80 สปีชีส์ที่พบว่าก่อให้เกิดโรคกับพืชทั่วโลก โดยเป็นเชื้อสาเหตุก่อให้เกิดโรคเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้า โรครากเน่า (root rot) หัวเน่า (tuber rot) โรคเหี่ยว (wilt) โรคใบไหม้ (leaf blight) ผลเน่า (fruit rot) และโรคโคนเน่า (collar and Trunk canker)

การพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าโดยปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp.ที่แยกได้บนลำต้นและรากของต้นโป๊ยเซียน พบว่าต้นโป๊ยเซียนที่ปลูกเชื้อแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าและตายลงอย่างรวดเร็ว เมื่อแยกเชื้อซ้ำพบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora* sp.ชนิดเดียวกันกับที่ปลูกเชื้อ เมื่อจำแนกสปีชีส์พบว่าคือเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse จากการตรวจเอกสารยังไม่พบรายงานว่าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน ดังนั้นรายงานนี้จึงเป็นการรายงานครั้งแรกว่าโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนมีเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุก่อโรค ที่ผ่านมานักวิชาการมักแนะนำสารเคมีป้องกันกำจัดราสำหรับการรักษาโรคนี้ไม่เหมาะสม เพราะสารเคมีที่แนะนำส่วนใหญ่ไม่มีผลกับเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ทำให้การป้องกันกำจัดโรคนี้ไม่ได้ผลสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย การทดลองครั้งนี้จึงนับได้ว่าเป็นการค้นพบที่มีประโยชน์ต่อวงการปลูกเลี้ยงต้นโป๊ยเซียนเป็นอย่างมาก

การทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ พบว่าทุกไอโซเลทสามารถทำให้ต้นโป๊ยเซียนแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และรากเน่าได้แต่มีความรุนแรงที่แตกต่างกันในแต่ละไอโซเลท สุภาพร (2537) รายงานว่าเชื้อรา *P. palmivora* ที่แยกได้จากดินและรากของต้นทุเรียนที่เป็นโรครากและโคนเน่า เมื่อทดสอบความรุนแรงในการก่อโรคกับใบทุเรียน พบว่าทุกไอโซเลทสามารถทำให้ใบทุเรียนแสดงอาการของโรคได้แตกต่างกันในแต่ละไอโซเลท

การคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* spp. ที่ต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เชื้อสาเหตุก่อโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ต้นส้มเช้า ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกันกับต้นโป๊ยเซียนมาใช้เป็นต้นตอพันธุ์ต้านทานโรคทดแทนโป๊ยเซียนแดงอุดม ซึ่งจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าต้นโป๊ยเซียนแดงอุดมเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ต้านทานโรค ขณะที่ต้นส้มเช้าสามารถต้านทานโรคได้ดีไม่ว่าจะปลูกเชื้อบนลำต้นหรือกิ่งพันธุ์ การที่ต้นส้มเช้าต้านทานโรคได้ดีกว่าชนิดอื่นอาจจะเนื่องมาจากสารฟีนอล (phenolic compound) ที่ต้นส้มเช้าผลิตขึ้น สังเกตจากบาดแผลของต้นส้มเช้าที่เปลี่ยนเป็นสีดำ (ภาพที่ 4.5ซ) ในขณะที่ไม่พบสารนี้ในพืชทดสอบชนิดอื่น สารนี้เกี่ยวข้องกับการต่อต้านของพืชที่มีต่อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช (ไพโรจน์. 2525) และจากการทดลองยังบ่งชี้ให้เห็นแนวโน้มที่จะพัฒนาโป๊ยเซียนสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ดอกขนาดใหญ่ที่ต้านทานโรคจากต้นโป๊ยเซียนพันธุ์มหามงกุฎที่มีความต้านทานโรคสูงพอสมควรในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อบนลำต้น ขณะที่ผลการปลูกเชื้อบนกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนมหามงกุฎกลับพบว่าไม่สามารถต้านทานเชื้อสาเหตุโรคนี้ได้ อาจเนื่องมาจากกิ่งพันธุ์ไม่มีส่วนของรากเหมือนต้น ซึ่งเชื่อกันว่าส่วนรากสามารถสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโต ถ้าพืชขาดส่วนรากจะทำให้พืชอ่อนแอ เชื้อสาเหตุโรคก็จะสามารถสร้างความเสียหายแก่ส่วนอื่น ๆ ได้ (เกษม. 2532ข) อย่างไรก็ตามกลไกการต้านทานโรคของต้นส้มเช้าและต้นโป๊ยเซียนมหามงกุฎที่กล่าวมาเป็นเพียงข้อสันนิฐาน กลไกการต้านทานโรคที่แท้จริงยังเป็นเรื่องที่น่าศึกษาต่อไปอย่างยิ่ง

นอกจากนี้ต้นส้มเช้ายังมีข้อดีคือ มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว เมื่อตัดยอดออกจะมีการแตกกิ่งออกเป็นจำนวนมาก และกิ่งที่แตกออกมาจะขนาดพอเหมาะกับยอดพันธุ์ดีของโป๊ยเซียนที่ปัจจุบันมีการพัฒนาสายพันธุ์ที่มีขนาดลำต้นใหญ่กว่าพันธุ์เดิมมากซึ่งลักษณะของต้นโป๊ยเซียนที่ดีที่ตลาดต้องการ (ปัญญา. 2540จ) ที่ผ่านมามีเกษตรกรบางคนนิยมใช้ต้นส้มเช้าเป็นต้นตอในการขยายพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนแบบเสียบกิ่งพบว่าได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงเป็นการยืนยันว่าต้นส้มเช้ามีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นต้นตอทดแทนการใช้ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมที่ไม่สามารถต้านทานเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เชื้อราสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียน แตกต่างจากความเข้าใจเดิม ๆ ที่นิยมใช้โป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมเป็นต้นตอ เนื่องจากเชื่อว่าเป็นพันธุ์ที่ต้านทานโรคได้ดี (ปลายปีก. 2538)

การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกและรากต้นโป๊ยเซียนจากสวนปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียน 4 แหล่ง โดยใช้วิธี soil dilution plate method บนอาหาร Martin's medium รวมทั้งสิ้น 153 ตัวอย่าง แยกได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท องอาจ (2533) รายงานการแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินบริเวณโคนต้นและส่วนรากของส้มเขียวหวานจากสวนส้ม 3 แหล่งได้ 22 ไอโซเลท บรรเจิด (2530) ได้รายงานการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างดินที่ประกอบการเกษตรกรรมกระจายทั่วประเทศ 20 แหล่ง ได้จำนวน 54 ไอโซเลท จำนวนไอโซเลทที่แยกได้ที่แตกต่างกันอาจเนื่องจากจำนวน ชนิด และแหล่งของตัวอย่างดินที่ใช้แยกเชื้อแตกต่างกัน เป็นที่น่าสังเกตว่าดินตัวอย่างที่บรรเจิดนำมาแยกเชื้อนั้นมีความหลากหลายของชนิดพืชที่ปลูกและกระจายทั่วประเทศ

การทดลองปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกและรากของต้นโป๊ยเซียนและจากแหล่งอื่นรวม 19 ไอโซเลท ลงบนแผลรอยตัดของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม พบเชื้อรา *Trichoderma* spp. บางไอโซเลท สามารถเจริญบนเนื้อเยื่อและทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเน่ายุบตัวลง จากการตรวจเอกสารที่ผ่านมาไม่พบว่ามีการศึกษาคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ก่อโรคหรือเป็นอันตรายต่อพืชทดสอบออกเสียก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไม่ใช่ทุกไอโซเลทจะปลอดภัยต่อต้นพืช อาจมีบางไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอินทรีย์สารเป็นแหล่งอาหารสูงเกินไปสามารถย่อยเนื้อเยื่อของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ได้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการก่อโรคของไอโซเลทที่ทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเน่ายุบตัวลงให้ชัดเจน รวมไปถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ผลิตเป็นชีวภัณฑ์ใช้ควบคุมโรคในปัจจุบันด้วย และในอนาคตถ้ามีการศึกษาคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควรมีขั้นตอนทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับต้นพืชก่อนเสมอ

การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ในระดับห้องปฏิบัติการ ในการทดสอบการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท สามารถเจริญปกคลุมทับโคโลนีและยับยั้งการเจริญของ *P. nicotianae* var. *parasitica* ได้ แต่ให้ผลแตกต่างกันไป องอาจ (2533) และสุธามาศ (2537)รายงานว่าในการทดสอบประสิทธิภาพบนอาหารแข็งของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินบริเวณโคนต้นและรากของส้มเขียวหวานเพื่อควบคุมเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เชื้อสาเหตุก่อโรครากเน่าของส้มเขียวหวาน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถเจริญปกคลุมทับและยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้

การทดสอบการเป็นไมโคพาราสิต พบเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท S27-1, S73-1 และ R1-1 มีคุณสมบัติเป็นไมโคพาราสิตกับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* อย่างเด่นชัด เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถแทงทะลุเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอโซเลท R1-1 สามารถสร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปเจริญใน zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* และพบไอโซเลท S5-1, S40-2, TISTR3080 และ TISTR3331 มีแนวโน้มเป็นไมโคพาราสิต โดยไอโซเลท S5-1 พบเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอก ไอโซเลท 40-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบเส้นใยพันรัด zoosporangium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อยู่ภายนอกอย่างหนาแน่น ไอโซเลท TISTR3080 และ TISTR3331 สามารถย่อยสลายผนังเซลล์เชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* คาดว่าเกิดจาก extracellular enzyme ที่สร้างโดยเชื้อราทั้งสองไอโซเลท องอาจ (2533) และสุธามาศ (2537) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินบริเวณโคนต้นและส่วนรากของส้มเขียวหวาน พบว่าเป็นปรสิตกับเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าของส้มเขียวหวาน โดยสามารถสร้างเส้นใยพันรอบเส้นใยเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* หลังจากเชื้อทั้งสองเจริญมาสัมผัสกัน และย่อยสลาย (lysis) เส้นใยเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ในเวลาต่อมา Hadar *et al.* (1979) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* ขณะพันรัดเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สามารถสร้างเอนไซม์ β-(1-3) glucanase และ chitinase ออกมาย่อยสลายเส้นใยก่อนใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ

การทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลาย พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสในอาหารสังเคราะห์ได้แตกต่างกัน จิระเดช และคณะ (2538) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่นำมาคัดเลือกเพื่อควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและไคตินได้ และยังกล่าวด้วยว่าการคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดควรพิจารณาทั้งความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคให้ได้ผลดี และเชื้อนั้นควรสร้างเอ็นไซม์ที่สำคัญเช่น cellulase และ chitinase ได้ในปริมาณสูงด้วย ระหว่างทำการทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสในครั้งนี้พบว่าวิธีนี้ทำได้ง่ายและใช้ได้ผลดีเป็นไปตามรายงานของ Rautela and Cowling (1966)

การทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลทให้ผลที่แตกต่างกันไป นฤทัย (2538) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าของข้าวสาลีได้แตกต่างกันในแต่ละไอโซเลท

การจำแนกสปีชีส์เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ สามารถจำแนกออกเป็น 5 กลุ่มสปีชีส์ คือเชื้อรา *T. atroviride*, *T. aureoviride*, *T. koningii*, *T. virens* และ *T. viride.* มีบางไอโซเลทที่ไม่สามารถจำแนกสปีชีส์ได้ ซึ่งพบว่าจำนวนไอโซเลทของแต่ละสปีชีส์ที่จำแนกได้มีจำนวนใกล้เคียงกันแตกต่างกับบรรเจิด (2530) ที่รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินเกษตรกรรมจำแนกได้เชื้อรา *T. harzianum* เป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของดินที่ใช้แยกที่แตกต่างกัน และเอกสารในการจัดจำแนกที่แตกต่างกัน จินตนา และคณะ (2543) รายงานว่าในการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* sp. โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิคทางอณูวิทยาสามารถจัดจำแนกได้แม่นยำกว่าการอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ต่อดินปลูกพบว่าอัตราส่วน 1:8 โดยน้ำหนัก เป็นอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากสามารถทำให้กิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์และดินผสมที่ได้มีลักษณะใกล้เคียงกับดินใบก้ามปูที่ใช้ปลูกต้นโป๊ยเซียนมากที่สุด ซึ่งวิธีการปลูกเชื้อและปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคที่ใช้นั้นเป็นเรื่องสำคัญ การปลูกเชื้อที่รุนแรงหรือปริมาณมากเกินไปอาจเป็นสาเหตุให้พืชทดสอบเกิดโรคอย่างรุนแรง จนพบว่าไม่มีจุลินทรีย์ชนิดใดที่ผ่านการทดสอบเลยแม้แต่สายพันธุ์เดียว ในกรณีตรงข้าม ถ้าพืชทดสอบเกิดโรคน้อยก็อาจพบว่าจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบเกือบทั้งหมดสามารถควบคุมโรคได้ในระดับใกล้เคียงกันจนไม่สามารถแยกได้ว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ใดมีประสิทธิภาพแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด (จิระเดช. 2538ก)

การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าในระดับเรือนปลูกพืชทดสอบ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma koningii* สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี คาดว่ากลไกหลักที่เชื้อรา *T. koningii* ใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora. nicotianae var. parasitica* เชื้อราสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียน คือการสร้างสารปฏิชีวนะ เนื่องจากพบว่าเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 ที่มีข้อด้อยในการสร้างสารปฏิชีวนะไม่สามารถควบคุมโรคได้เลย ทั้งที่ในการทดสอบการเจริญแข่งขันสามารถเจริญได้รวดเร็วเข้าคลุมทับโคโลนีและยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. nicotianae var. parasitica* ได้ และในการทดสอบกลไกลการเป็นไมโคพาราสิตก็พบว่ามีแนวโน้มที่จะเป็นไมโคพาราสิตของเชื้อรา *P. nicotianae var. parasitica* เนื่องจากพบการพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค และการย่อยสลายเซลลูโลสก็มีประสิทธิภาพอยู่ในระดับที่น่าพอใจ จึงสรุปว่าเชื้อรา *T. koningii* ใช้กลไกการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae var. parasitica* เป็นกลไกหลักร่วมด้วยกลไกอื่น ๆ ในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียน มีงานวิจัยที่ใช้เชื้อรา *T. koningii* เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยับยั้งโรคพืชหลายชนิดเช่น Simon *et al.* (1988) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* ที่แยกได้จากดินปลูกข้าวสาลีของประเทศออสเตรเลียสามารถสร้างสารปฏิชีวนะไพโรน 6-n-pentyl-2H-pyrane-2-one ออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. cinnamomi* และเชื้อราสาเหตุของโรคเน่าระดับดินอื่น ๆ อีก 5 ชนิด นฤทัย (2538) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* ที่แยกได้จากดินในแปลงปลูกข้าวสาลีในประเทศออสเตรเลีย ไอโซเลทที่ยับยั้งโรครากเน่าของข้าวสาลีที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* ได้จะสามารถสร้างสารปฏิชีวนะไพโรน 6-pentyl-α-pyrone ได้ ในขณะที่ไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งโรคต่ำไม่สามารถสร้างสารนี้ได้ Duffy *et al.* (1996) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* ที่แยกจากดินในประเทศออสเตรเลียสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่หลากหลายชนิด ซึ่งร่วมถึงสารเชิงซ้อนไพโรน 4,8-dihydroxy-2-(1-hydroxyheptyl)-3,4,5,6,7,8,-hexahydro-2H-1-benyopyran-5-one ออกมายับยั้งเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* เชื้อสาเหตุของโรค take-all ของข้าวสาลีได้ Roiger and Jeffers (1991) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* มีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งโรคยอดและรากเน่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Phytophthora crown and root rot) ของแอปเปิลที่มีเชื้อรา *P. cactorum* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง มานะ และคณะ (2536) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* ที่แยกได้จากรากข้าวและดินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *R. solani* เชื้อสาเหตุก่อโรคกาบใบแห้งของข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ Duffy *et al.* (1997) รายงานว่าเชื้อรา *T. koningii* นอกจากจะสามารถยับยั้งโรค take-all ของข้าวสาลีได้แล้วยังส่งเสริมให้ผลผลิตของข้าวสาลีเพิ่มขึ้นในการทดลองระดับสภาพไร่ในประเทศออสเตรเลีย จีน และสหรัฐอเมริกาอีกด้วย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. อย่างละเอียดในการคัดแยกสายพันธุ์เชื้อรา การทดสอบการก่อให้เกิดโรคกันเนื้อเยื่อพืช ทดสอบประสิทธิภาพในการเจริญแข่งขัน การเป็นไมโคพาราสิต การย่อยสลายเซลลูโลส และการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* ในระดับห้องปฏิบัติการ ตลอดจนการทดสอบการควบคุมโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าเชื้อรา *T. koningii* ให้ผลที่โดดเด่นและดีเยี่ยม และจากการที่เชื้อรา *T. koningii* สามารถควบคุมเชื้อราโรคพืชได้หลายชนิด จึงมีความเป็นไปได้อย่างมากที่เชื้อรา *T. koningii* ไอโซเลท R1-1 น่าจะได้รับการพัฒนาขึ้นเป็นชีวภัณฑ์ชนิดใหม่เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการเกษตรต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัย

การสำรวจโรคของต้นโป๊ยเซียนจากแหล่งปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า 4 แหล่ง พบโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าเป็นโรคที่สำคัญที่สุด โรคนี้สามารถลุกลามอย่างรวดเร็วและรุนแรงจนทำให้ต้นโป๊ยเซียนที่เป็นโรคตายลงในระยะเวลาอันสั้น การแยกเชื้อสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าจากตัวอย่างต้นโป๊ยเซียน สามารถแยกเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นเชื้อสาเหตุโรค มีลักษณะเป็นเชื้อราน้ำเส้นใยสีขาวคล้ายสำลีที่มีการสร้าง sporangium ที่มี zoospore อยู่ภายใน เมื่อจำแนกสกุลพบว่าคือเชื้อรา *Phytophthora* sp. การพิสูจน์การก่อให้เกิดโรคโดยปลูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้นี้บริเวณลำต้นและรากของต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม พบว่าสามารถทำให้ต้นโป๊ยเซียนแสดงอาการของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าและตายในระยะเวลาที่รวดเร็ว เมื่อทำการแยกเชื้อซ้ำพบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora* sp. ชนิดเดียวกันกับที่ใช้ปลูกเชื้อ การจำแนกสปีชีส์เชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้นี้ พบว่าคือเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse

การทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ที่แยกได้ พบว่าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* จำนวน 3 ไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงสูงสุด จึงคัดเลือกไอโซเลทหนึ่งในจำนวน 3 ไอโซเลทไว้เป็นตัวแทนในการทดสอบต่อไป

การปลูกเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* กับต้นและกิ่งพันธุ์พืชสกุล *Euphorbia* 8 ชนิดคือ ต้นส้มเช้า ต้นโป๊ยเซียนจักรพรรดิ ต้นสลัดได ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์หนึ่งในจักรวาล ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ทรัพย์ประเสริฐ ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์ดวงนฤมล และต้นโป๊ยเซียนพันธุ์มหามงกุฎ พบว่า ต้นส้มเช้า มีความสามารถต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนได้ดีที่สุด ต้นส้มเช้าจึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นต้นต่อต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่า ทดแทนต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมที่อ่อนแอต่อโรคนี้

การแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกและรากต้นโป๊ยเซียน จากแหล่งปลูกเลี้ยงโป๊ยเซียนเป็นเชิงการค้า 4 แหล่ง สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ 12 ไอโซเลทจากดินปลูกและจากรากโป๊ยเซียน 2 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้นี้มาทดสอบปฏิกิริยากับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากแหล่งอื่นอีก 5 ไอโซเลท พบเชื้อรา *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลทสามารถเจริญบนเนื้อเยื่อของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนและทำให้กิ่งพันธุ์เน่ายุบตัวลง ขณะที่อีก 11 ไอโซเลทที่เหลือไม่พบว่าสร้างความเสียหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดม จึงคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. กลุ่มหลังนี้ไว้ทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่คัดเลือกได้ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท R1-1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ในการเจริญแข่งขันสามารถเจริญปกคลุมและยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* ได้ดี มีคุณสมบัติเป็นไมโคพาราสิตของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* อย่างเด่นชัด สามารถแทงเส้นใยทะลุผ่านเข้าไปเจริญในเส้นใยและ zoosporagium ของเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสได้สูงที่สุดและสามารถสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ไอโซเลทอื่นมีประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ต่ำกว่า โดยเฉพาะไอโซเลท S5-1 ที่มีข้อด้อยในการสร้างปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* จึงคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท R1-1 และ S5-1 ไว้ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนในระดับเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

การจำแนกสปีชีส์เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลทที่แยกได้จากดินปลูกและจากรากของต้นโป๊ยเซียน สามารถจัดจำแนกได้ 8 ไอโซเลทออกเป็น 5 กลุ่มสปีชีส์ คือ

1. *Trichoderma atroviride* Karsten : 2 ไอโซเลทคือไอโซเลท S5-1 และ S73-1
2. *Trichoderma aureoviride* Rifai :2 ไอโซเลทคือS36-1 และ R18-1
3. *Trichoderma koningii* Oudemans :1 ไอโซเลทคือไอโซเลท R1-1
4. *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) von Arx : 1 ไอโซเลทคือไอโซเลท S63-1
5. *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray : 2 ไอโซเลทคือไอโซเลท S33-1และ S84-1

และอีก 6 ไอโซเลทไม่สามารถจัดจำแนกได้ คือ S11-1, S27-1, S38-1, S38-2, S40-1 และ S40-2

การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนที่มีเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เป็นเชื้อสาเหตุโรคในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าเชื้อรา *Trichoderma koningii* สามารถยับยั้งการเกิดโรคโตนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียนได้เป็นอย่างดี โดยกรรมวิธีที่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 92.86 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *T. koningii* ซึ่งไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้เลย โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตายไม่แตกต่างทางสถิติ (DMRT ที่ 5%) จากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2525. **รายชื่อไม้ดอกไม้ประดับ.** กรุงเทพฯ : งานไม้ดอกไม้ประดับ กองส่งเสริมพืชพันธุ์ กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เกษม สร้อยทอง. 2532ก. "การใช้รา *Chaetomium cupreum* ในการควบคมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี." **วารสารโรคพืช.** 9(1) : 28-33.

เกษม สร้อยทอง. 2532ข. **การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เกษม สร้อยทอง. 2534. "การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด." หน้า 269-275. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 29.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกษม สร้อยทอง. 2537. "เชื้อราปราบโรคพืช : งานวิจัยที่สัมฤทธิ์ผลแล้ว." **วารสารเคหการเกษตร.** 17(2) : 135-137.

เกษม สร้อยทอง และชลฎา สถิตวัฒโนทัย. 2536. "การควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow โดยชีววิธี." หน้า 45. ใน **รายงายการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1.** กรุงเทพฯ.

เกียรติ ลีละเสรษฐกุล. 2538 "การใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชอย่างมีประสิทธิภาพ." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(1) : 135-138.

จริยา จันทร์ไพแสง. 2538. "ความหลากหลายของพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่พบในประเทศไทย." หน้า 141-150. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

จินตนา อิงคนินันท์. และคณะ. 2543. "การจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* sp. โดยอาศัยเทคนิคทางอณูวิทยาร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา." หน้า 276-283. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 38 สาขาพืช.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2531. **นิเวศน์วิทยาและการควบคุมเชื้อโรคพืชในดินโดยชีววิธี.** รายงานผลการวิจัย. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538ก. "จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชในรูปชีวภัณฑ์ : ผลิตภัณฑ์ที่ต้องพิจารณา ตอนที่ 1." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(4) : 141-148.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538ข. "จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชในรูปชีวภัณฑ์ : ผลิตภัณฑ์ที่ต้องพิจารณา ตอนจบ." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(5) : 118-122.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538ค. "การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา : ตอนที่ 2 จากงานวิจัยอันยาวนาน." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(10) : 159-165.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538ง. "การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา : ตอนที่ 1 หลักการและบทบาท." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(8) : 141-145.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538จ. "การผลิตและการประยุกต์ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช." หน้า 151-169. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ. 2536. "ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma harzianum*) พันธุ์กลายที่ต้านทานเบนโนมิลในการควบคุมโรคโคนต้นเน่าของมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อราสเคลอโรเทียม (*Sclerotium rolfsii*)." หน้า 34 . ใน **การประชุมวิชาการครั้งที่ 11 เรื่องเทคนิคของวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ.** นครปฐม : ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ. 2538. "การคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายเซลลูโลสและไคติน." หน้า 15-37. ใน **รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยพัฒนาและวิศวกรรม ครั้งที่ 5/2537 การผลิตและการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชี เพื่อควบคุมเชื้อราสเคลอโรเทียมรอล์ฟสิไอ.** กรุงเทพฯ : ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

จิระเดช แจ่มสว่าง และชูชาติ ตันอังสนากุล. 2538. "ไตรโคเดอร์มา : เชื้อราควบคุมโรคพืช." หน้า 220-221. ใน **งานแสดงเกษตรและอุตสาหกรรมโลก : หนังสือที่ระลึกเนื่องในโอกาสงานแสดงเกษตรและอุตสาหกรรมโลกในส่วนของอาหารเพื่อมวลมนุษย์.** กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.

จิระเดช แจ่มสว่าง และบรรเจิด อินหว่าง. 2529. "การควบคุมโรคเน่าระดับดินไรซ๊อกโทเนียของฝ้ายโดยวิธีคลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์" **วารสารโรคพืช.** 6(3-4) : 63-72.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล เกษนรา. 2534. "การผลิตและทดสอบคุณภาพของผงเชื้อรา *Trichoderma harzianum*." **วิทยาสารเกษตรศาสตร์.** 25 : 169-176

เจริญ สุขพงษ์. 2533. **คู่มือแนะนำลักษณะและประโยชน์ของสมุนไพร : พรรณไม้ที่วงการวิทยาศาสตร์ยอมรับฉบับสมบูรณ์.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์หมึกจีน.

ช่อทิพย์ ถนอมถิ่น. 2538. "การใช้แบคทีเรียแอนทาโกนิสต์เพื่อควบคุมเชื้อ *Erwinia* สาเหตุโรคเน่าเละในมันฝรั่ง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2539. **ดินและปุ๋ยสำหรับโป๊ยเซียน.** กรุงเทพฯ : ชมรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร.

เต็ม สมิตินันท์. 2523. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย : ฉบับชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง.** กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2538. "งานวิจัยในปัจจุบันด้านการใช้แบคทีเรียบางชนิดควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ." หน้า 118-129. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

นิรนาม. 2505. "รายชื่อโรคที่ตรวจพบ." หน้า 207-215. ใน **รายงานประจำปี แผนกโรควิทยา.** กรุงเทพฯ : กองพืชพันธุ์ กรมกสิกรรม.

นฤทัย ศรีกุล. 2538. "สารไพโรนกับการควบคุมโรครากเน่าของข้าวสาลีที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* โดย *Trichoderma koningii.*" หน้า 13-19. ใน **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 2**. เล่มที่ 1 กรุงเทพฯ : ฟันนี่พับลิชชิ่ง.

บรรเจิด อินหว่าง. 2530. "การควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuehn โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากดินเกษตรกรรม." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรเจิด อินหว่าง และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2529. "การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ (*Rhizoctonia solani* Kuehn) โดยจุลินทรีย์จากดินเกษตรกรรม." หน้า 173-185. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 24 สาขาพืช.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประวิทย์ รุจิรวงศ์ และคณะ. 2539. **โป๊ยเซียน : ไม้แห่งโชคลาภ.** กรุงเทพฯ : บริษัท ก.พล 1996 จำกัด.

ประเสริฐ ศิริบุญเรือง. 2537. **โป๊ยเซียน ไม้ดอกเสี่ยงทาย ไม้แห่งโชคลาภ.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ใบไม้.

ปริญญา จันทร์ศรี และคณะ. 2533. "การควบคุมโรคเน่าเละของมันฝรั่งโดยชีววิธี." หน้า 467-476. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 28.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปลายปีก (นามแฝง). 2538. "โป๊ยเซียน : ไม้แห่งโชคลาภของประเสริฐ พุ่มแก้ว." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(8) : 90-96.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2540ก. "ความสำคัญของต้นโป๊ยเซียน." หน้า 170-171. ใน **เอกสารโครงการฝึกอบรมประจำปีงบประมาณ 2540.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2540ข. "โรคของโป๊ยเซียนและการป้องกันกำจัด." หน้า 197-199. ใน **เอกสารโครงการฝึกอบรมประจำปีงบประมาณ 2540.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2540ค. "แมลงศัตรูโป๊ยเซียน." หน้า 200-206. ใน **เอกสารโครงการฝึกอบรมประจำปีงบประมาณ 2540.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2540ง. "โรคของโป๊ยเซียนและการป้องกันกำจัด." หน้า 197-199. ใน **เอกสารโครงการฝึกอบรมประจำปีงบประมาณ 2540.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2540จ. "วิธีพิจารณาลักษณะที่ดีของโป๊ยเซียน." หน้า 172-176. ใน **เอกสารโครงการฝึกอบรมประจำปีงบประมาณ 2540.** กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2537. "การใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช : ไฮเทคที่ต้องทำความเข้าใจ ตอนที่ 1." **วารสารเคหการเกษตร.** 18(12) :175-184.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2538. "การใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช : ไฮเทคที่ต้องทำความเข้าใจ ตอนจบ." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(1) : 157-162.

พัฒนา สนธิรัตน และคณะ. 2534. "รายงานโรคพืชเกิดจากเชื้อราชุดที่ 2." **วารสารโรคพืช.** 11(3-4) : 65-72.

พันธุ์ทิพย์ บริพัตร, ม.ร.ว. และคณะ. 2520. **ทะเบียนพันธุ์ไม้ประดับ.** กรุงเทพฯ : สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2 (ปรับปรุงเพิ่มเติม). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณจันทร์ เมฆธน และชัยวัฒน์ กระตุฤกษ์. 2537. "การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนโดยชีววิธีด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* AP01 (ลาร์มิน่า®)." หน้า 200-208. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 32.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณฑล เนตรสว่าง. 2533. **โป๊ยเซียนต้นไม้เสี่ยงทาย.** กรุงเทพฯ : อักษรสาสน์

มานะ กาญจนมณีเสถียร และคณะ. 2536. "ปฏิกิริยาระหว่างเชื้อราแอนทาโกนิสต์ และเชื้อราสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว." หน้า 611-613. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 31.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัชรี สมสุข. 2538. "การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช." หน้า 207-221. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

วัชรี สมสุข และพิมลพร นันทะ. 2535. "การผลิตไส้เดือนฝอยปราบแมลงศัตรูพืชด้วยอาหารเทียม." **วารสารวิชาการเกษตร** กษ. 10(1) : 1-4.

วิจิตร วังใน และคณะ. 2537. **การจำแนกพืชสวน.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชัย คูสกุล. 2537. **โป๊ยเซียน : ไม้ยอดนิยม.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ผึ้ง-หวาน.

สนิท กิตติกรณ์ และคณะ. 2523. **รายชื่อพืชทั่วไป.** กรุงเทพฯ : กองพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร.

สมคิด ดิสถาพร. 2538ก. "คำกล่าวรายงาน **พิธีเปิดการประชุมสัมนาเชิงปฏิบัติการ** การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืช." หน้า 1. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

สมคิด ดิสถาพร (ผู้ถอดเทป). 2538ข. "บทสรุปข้อเสนอแนะที่ได้จากการระดมความคิดผู้เข้าร่วมประชุม." หน้า 280-284. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมวิชาการเกษตร.

สัมฤทธิ์ เกียววงษ์ และคณะ. 2542. "การประเมินศักยภาพการควบคุมผักตบชวาโดยชีววิธีด้วยเชื้อรา *Aphanomyces* sp.." หน้า 141-148. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 37.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุธามาศ อินตะสอน. 2537. "อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เมื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และสารเคมีควบคุมเชื้อราต่อโรครากเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* (Dastur.)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุธามาศ อินตะสอน และคณะ. 2537. "ประสิทธิภาพของส่วนผสมผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา เมื่อใช้ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราต่อโรครากเน่าของต้นกล้าส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อราไฟทอฟทอรา พาราซิติกา." หน้า 144-161. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 32.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภกิจ กิจภิญโญ. 2536. "การประเมินความเสียหาย การเปลี่ยนแปลงประชากร และการป้องกันกำจัดเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* ในแปลงทดสอบโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุภาพร อวรัญ. 2537. "การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากและโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl.." **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

สุภาพร อวรัญ และคณะ. 2537. "การใช้ส่วนผสมของผงเชื้อราไตรโคเดอร์มาร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราในการควบคุมโรครากเน่า และโคนต้นเน่าของกล้าทุเรียน ซึ่งเกิดจากเชื้อราไฟทอฟทอรา พัลมิวอรา." หน้า 162-179. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 32.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไสว บูรณพานิชพันธุ์. 2538. "แมลงศัตรูโป๊ยเซียน." **วารสารเคหการเกษตร.** 19(8) : 133-136.

องอาจ เติมเกียรติไพศาล. 2533. "อิทธิพลของจุลินทรีย์ดินต่อโรครากเน่าในส้มเขียวหวานซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phythopthora parasitica* (Dastur.)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

องอาจ เติมเกียรติไพศาล และคณะ. 2534. "การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ดิน เพื่อควบคุมโรครากเน่าไฟทอฟทอรา ของส้มเขียวหวาน โดยชีววิธี." หน้า 319-330. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 29.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรดี สหวัชรินทร์. 2534. "เทคโนโลยีการผลิตโป๊ยเซียน." หน้า 137-142. ใน **เทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ.** กรุงเทพฯ : สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2538. "การผลิตและการนำ *Bacillus thuringiensis* ไปใช้ในสภาพไร่." หน้า 200-202. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ กรมวิชาการเกษตร.

อุทัย เกตุนุติ. 2538. "การผลิตและนำไวรัส นิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีส ไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช." หน้า 203-206. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ กรมวิชาการเกษตร.

อุทัย สินธุสาร และสวัสดิ์ หรั่งเจริญ. 2526. **โป๊ยเซียนไม้เสี่ยงทาย.** กรุงเทพฯ : อมรินทร์การพิมพ์.

อุบล คือประโคน และคณะ. 2528. " เชื้อรา *Phytophthora* ชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย." หน้า 409-421. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 23.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุรัจฉทา กสิกรรมไพบูลย์ และคณะ. 2535. "ผลของแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ." หน้า 321-328. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ครั้งที่ 30.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุไร จิรมงคลการ (ผู้เรียบเรียง). 2538. **โป๊ยเซียน ไม้ดอกเสี่ยงทาย เล่ม 1** กรุงเทพฯ : บ้านและสวน อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

อุไร จิรมงคลการ (ผู้เรียบเรียง). 2539. **โป๊ยเซียน ไม้ดอกเสี่ยงทาย เล่ม 2** กรุงเทพฯ : บ้านและสวน อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

อุไร จิรมงคลการ (ผู้เรียบเรียง). 2540. **โป๊ยเซียน ไม้ดอกเสี่ยงทาย เล่ม 4** กรุงเทพฯ : บ้านและสวน อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

Bissett, J. 1984. "A revision of the genus *Trichoderma*. I.Section *Longibarchiatum* sect.nov." **Can. J. Bot.** 62 : 924-931.

Bissett, J. 1991a. "A revision of the genus *Trichoderma*. II.Infrageneric classification." **Can. J. Bot.** 69 : 2357-2372.

Bissett, J. 1991b. "A revision of the genus *Trichoderma*. III.Section *Pachybasium*." **Can. J. Bot.** 69 : 2373-2417.

Bissett, J. 1991c. "A revision of the genus *Trichoderma*. IV.Additional notes on section *Longibarchiatum*. **Can. J. Bot.** 69 : 2418-2420.

Bissett, J. 1992. "*Trichoderma atroviride*." **Can. J. Bot.** 70 : 639-641.

Brako,L. *et al.* 1995. **Scientific and Common Names of 7,000 Vascular Plants in The United Stated .** USA. : The American Phytopathological Society.

Cook, R.J. 2538. "The role of biological control in pest management in the 21st century." หน้า 5-20. ใน สมคิด ดิสถาพร (ผู้รวบรวม). **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช.** กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ กรมวิชาการเกษตร.

Coombes, A.J. 1990. **The Collingridge Dictionary of Plant Names.** Finland : Reed International Book.

Dhingra, O.D. and J.B. Sinclair. 1987. **Basic Plant Pathology Method.** 4 th. USA. : CRC Press.

Duffy, B.K. *et al.* 1996. "Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all on wheat." **Phytopathology.** 86(2) : 188-194.

Duffy, B.K. *et al.* 1997. "Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*." **Phytopathology.** 87(11) : 1118-1124.

Graf, A.B. 1978. **Exotic Plant Manual.** New Jersey. : Roehrs Co.

Graf, A.B. 1981. **Tropica : Color Cyclopedia of Exotic Plants.** New Jersey : Roehrs Co.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hadar, Y. *et al.* 1979. "Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*" **Phytopathology**. 69(1) : 64-68.

Hyam, R., and R. Pankhurst. 1995. **Plants and Their Names : A Concise Dictionary**. New York : Oxford University Press.

Johnson, L.F. and E.A. Curl. 1972. **Methods for Research on the Soilborne Plant Pathogen.** Minnesota : Burgess Publishing Company.

Little, T.M. and F.J. Hills. 1975. **Statistical Methods in Agricultural Research.** 2.nd Davis : UCD Book Sttore University of California.

Mitchell, D.J. and M.E. Kannwischer-Mitchell. 1992. "Phytophthora." pp. 31-38. In Singleton, L.L. *et al.* **Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi.** Minnesota : The American Phytopathological Society.

Rautela, G.S. and E.B. Cowling. 1966. "Simple culture test for relative cellulolytic activity of fungi." **Appl. Microbiol.** 14(6) : 892-898.

Rifai , M.A. 1969. **A Revision of the Genus *Trichoderma*.** Mycol. Paper No 116. Kew : Commonwealth Mycological Institute.

Roiger, D.J. and S. N. Jeffers. 1991. "Evaluation of *Trichoderma* spp. for biological control of Phytophthora crown and root rot of apple seedling." **Phytopathology.** 81(8) : 910-917.

Royse, D.J. and S. M. Ries. 1978. "The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*." **Phytopathology.** 68 : 603-607

Samson,R. A. and E. S. van Reenen-Hoekstra. 1988. **Introduction to Food-Borne Fungi**. Netherlands : Centraalbureau voor Schimmelcultures Co.

Simon, A. *et al.* 1988. "*Trichoderma koningii* produces a pyrone compound with antibiotic properties." **Soil Biol. Biochem.** 20 : 263-264

Singh, J. and J. L. Faull. 1988. "Antagonism and biological control." 167-177. In K. G. Mukerji and K. L. Garg (editor). **Biocontrol of Plant Diseases.** Volume II. Florida : CRC Press.

Stamps, D.J. *et al.* 1990. **Revised Tabular Key to the Species of *Phytophthora*.** Mycol. Paper No 162. Kew : Commonwealth Mycological Institute.

Sukjaimit., S. and S. Sonthirat. 1988. "Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita* Chitwood) by a soil fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson." **Thai Phytopath**. 8(2) : 84-90.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

CA : Carrot agar

Carrot	200 g
Agar	12 g
Distilled water	1,000 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

MEA : Malt extract agar (Samson and Reenen-Hoekstra. 1988)

Malt extract (powdered)	20 g
Peptone, bacteriological	1 g
Glucose, A.R.	20 g
Agar	20 g
Distilled water	1,000 ml

Final pH 5.0-5.5

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2% MA : 2% malt extract agar (Rifai. 1969)

Oxoid malt extract	20.0
Agar	20.0
Distilled water	1,000 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Martin's medium : Peptone-dextrose-rose bengal agar (Johnson and Curl. 1972)

Agar	15 g
KH_2PO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 g
Peptone	5 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dextrose	10 g
Rose bengal (1% in alc.)	3.3 ml
Distilled water	1,000 ml
Streptomycin	1 g

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หมายเหตุ : ใส่ streptomycin หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อ ขณะอาหารมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

PDA : Potato dextrose agar

Potato	200 g
Dextrose or glucose	20 g
Agar	15 g
Distilled water	1,000 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

V-8 juice broth

V-8 juice	200 ml
$CaCO_3$	2 g
Distilled water	800 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

V-8 juice agar

V-8 juice	200 ml
$CaCO_3$	2 g
Agar	12 g
Distilled water	800 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

WA 1% : Water agar

Agar	10 g
Distilled water	1,000 ml

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลส (จิระเดช และคณะ. 2538)

ดัดแปลงมาจากสูตรอาหารของ Rautela and Cowling (1966)

$NH_4H_2PO_4$	2 g
KH_2PO_4	0.6 g
K_2HPO_4	0.4 g
MgSO4.7H2O	0.5 g
Yeast extract	1 g
Agar	15 g
Distilled water	1,000 ml
Microcrystalline cellulose (swollen cellulose)	0.5 % dry weight

นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสีย้อม

สีย้อม lactophenol (Dhingra and Sinclair. 1987)

เตรียมสีย้อม lactophenol โดยมีส่วนผสมดังนี้

Glycerine	40 กรัม
Lactic acid	20 กรัม
Phenol	20 กรัม
Distilled water	20 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายเข้าด้วยกัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง

สีย้อม lactophenol – acid fuchsin (Dhingra and Sinclair. 1987)

เตรียมสีย้อม lactophenol – acid fuchsin โดยมีส่วนผสมดังนี้

Glycerine	40 กรัม
Lactic acid	20 กรัม
Phenol	20 กรัม
Distilled water	20 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายเข้าด้วยกัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วเติม 1-5 มิลลิตร ของ 1 เปอร์เซ็นต์ของ acid fuchsin ที่ละลายในน้ำ หรือจนได้สีที่เข้มตามต้องการ และ ตามด้วย 0-20 มิลลิลิตรของ glacial acetic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

วิธีเตรียม swollen cellulose

สำหรับการเตรียม swollen cellulose ดำเนินการตามวิธีของ Rautela and Cowling (1966) โดยชั่ง microcrystalline cellulose หรือ avicel $(C_6H_{10}O_5)n$, Merck จำนวน 1.0 กรัม ใส่ในกรดฟอสฟอริก 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 13.0 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ และคนอยู่เสมอที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงแล้วล้างกรดออกโดยใช้น้ำเย็นประมาณ 4 ครั้ง นำมาตกตะกอนเซลลูโลสที่เตรียมได้ ใส่ลงในสารละลาย Na_2CO_3 1 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการกวนเป็นครั้งคราว นำตะกอนมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (blender) แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น และแยกตะกอนโดย centrifuge จนกระทั่ง pH เป็นกลางหรือเท่ากับน้ำกลั่น จากนั้นเก็บสารละลายของเซลลูโลส หรือ swollen cellulose ที่เตรียมได้ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ microcrystalline เป็นแหล่งคาร์บอน จำเป็นต้องทราบน้ำหนักของ microcrystalline cellulose ที่เตรียมได้ในแต่ละครั้ง โดยนำสารละลายที่เตรียมได้จำนวน 10 มิลลิลิตร อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่งโมง แล้วชั่งหาน้ำหนักแห้งของ swollen cellulose ต่อปริมาตรสารละลาย 10 มิลลิลิตร ซึ่งจะใช้ในการคำนวณเพื่อเตรียมอาหารทดสอบเชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

Key to species aggregates of *Trichoderma* (Rifai. 1969)

A. Conidiophores long and thick, often with sterile hyphal elongations ; side branches mostly short but thick, bearing crowded, short and plump phialides ; colonies whitish-green to green, generally with compact tufts of conidiophores.

B. Sterile hyphal elongation absent ; phialospores globose, hyaline .... *T. piluliferum*

Bb. Sterile hyphal elongation present or modified or rarely absent ; phialospores not globose ; hyaline or green coloured

C. Phialospores hyaline, small .... *T. polysporum*

Cc. Phialospores green, smail to large .... *T. hamatum*

Aa. Conidiophores and their side branches long and slender, without sterile hyphal elongation ; phialides not crowded, rather slender ; colonies yellowish, bright, dull to dark green, floccose or with compact conidiophore tufts.

D. Phialospores smooth-walled

E. Conidiophores with complicated dendroid branching system ; phialides quite regularly disposed and almost *Verticillium*-like

F. Phialospores ellipsoidal or oblong, often appearing angular .... *T. koningii*

Ff. Phialospores obovoid, with truncate base ; reverse of colonies often discoloured .... *T. aureoviride*

Fff. Phialospores globose or subglobose or short obovid, with length and breadth ratio of less than 1.25 .... *T. harzianum*

Ee. Conidiophores with simpler branching systems ; phialides irregularly disposed, often arising singly and almost *Cephalosporium*-like

G. Phialospores large, up to 7 μ long, mostly elliptic ellipsoidal ; phialides usually only slightly attenuate at the base ...... *T. longibrachiatum*

Gg. Phialospores smaller, 2.8-4.8 μ long , mostly oblong ellipsoidal ; phialides often distinctly attenuate at the base ; branching system of conidiophore more complicated .... *T. pseudokoningii*

Dd. Phialospores rough-walled .... *T. viride*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

Key to species of *Trichoderma* section *Longibrachiatum* (Bissett. 1984)

1a. Conidiophores with side branches relatively long and several times rebranched ; branches often curved or sinuous ; conidia spinulose, roughened or pitted, or if smooth walled then globose and greater than 3.5 μm diam. ……………….cf. *T. viride* aggr. sensu Rifai (1969)

1b. Conidiophores with side branches short and rarely rebranched ; conidia smooth walled and ellipsoidal to cylindrical ……………………………………………………………… 2

2a. Phialides arising predominately in false whorls ; intercalary phialides not produced ………………………………………………………… cf. *T. koningii* aggr. sensu Rifai (1969)

2b. Phialides frequently arising singly, particularly toward the apex of the conidiophore and its branches ; intercalary phialides produced by most strains …………………………………. 3

3a. Conidiophores bearing side branches that are commonly rebranched once or twice ; phialides distinctly constricted at the base ; conidia mostly smaller than 4.0 x 2.5 μm ……………… 4

3b. Conidiophores very sparingly branched ; phialides nearly cylindrical and hardly or not at all constricted at the base ; conidia mostly larger than 4.0 x 2.5 μm ……………………….. 5

4a. Colonies with conidial areas typically forming compact, spreading pustules ; conidiation in yellow-green shades or dark olive in older cultures ; conidia ellipsoidal and mostly smaller than 3.5 x 2.0 μm …………………………………………………………… *T. citrinoviride*

4b. Colonies with conidial areas widely effused and not forming pustules ; conidiation mostly in bluish-green shades and not darkening appreciably in age ; conidia nearly cylindrical and frequently larger than 3.5 x 2.0 μm ……………………………………………… *T. koningii*

5a. Conidia more or less obovoid, variable in size but usually shorter than 5.0 μm …………………………………………………………………. *T. longibrachiatum*

5b. Conidia ellipsoidal, mostly longer than 5.0 μm ……………………………… *T. atroviride*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.

Key to the section *Trichoderma* (Bissett. 1991a)

1a. Conidiatio effuse; conidiophores with few or no lateral branches ; phialides borne in simple terminal verticils, cylindrical to lageniform .... section *Hypocreanum*

1b. Conidiatio effuse or fasciculate to pustulate ; conidiophores with frequent lateral branches ; phialides mostly lageniform to ampulliform 2

2a. Conidiophore main axes long with short secondary branches, not extensively rebranching ; branches and phialides frequently arising singly .... section *longibrachiatum*

2b. Conidiophores repeatedly rebranching ; branches and phialides paired or verticillate 3

3a. Phialides ampullifrom to broadly lageniform, mostly in verticils of 2 or 3 ; conidia with conspicuous, sinuste, winglike or bullate ornamentation .... section *Saturnisporum*

3b. Phialides lageniform to subulate, or if ampulliform, then in verticils of up to 7 ; conidia smooth or verrucose 4

4a. Conidiophores and branches relatively broad (main axis to 10 μm wide) ; phialides in verticils of 2-7, ampulliform to lageniform .... section *Pachybasium*

4b. Conidiophores and branches narrow and flexuous (main axis to 6 μm wide) ; phialides mostly in verticils of 2 or 3 , lageniform to subulate .... section *Trichoderma*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช.

Dichotomous key to species in *Trichoderma* section *Pachybasium* (Bissett. 1991b)

1. Conidiation entirely effuse, or conidiophores arranged in loosely organized flat pustules or small irregular fascicles ; conidiophores sparingly branched with principal branches most often arising singly or paired 2
1. Conidiophores organized in compact, hemispherical to cushion-shaped pustules on MA ; conidiophores usually highly branched with branches 2-4 verticillate 7

2. Conidiophores arranged in fascicles up to 2 mm in diameter 3
2. Conidiophores effuse, or loosely arranged in flat pustules 4

3. Colonies less than 4 cm in diamerter after4 days at 20 °C ; aerial hyphae more than 1.5 µm in diameter ; chlamydospores infrequent .... *Trichoderma* anam. *H. gelatinosa* (6)
3. Colonies more than 4 cm in diamerter after4 days ; aerial hyphae mostly less than 1.5 µm in diameter ; chlamydospores abundant in older mycelium .... *T. fasciculatum* (3)

4. Conidia subglobose to obovoid, smaller than 3.5 x 2.5 µ m .... *T. harzianum* (8)
4. Conidia broadly ellipsoidal, larger than 3.5 x 2.5 µm 5

5. Conidia pale brown .... *T. flavafuscum* (5)
5. Conidia dark green 6

6. Conidiophores aggregated into flat pustules on MA, usually with sterile apical elongation .... *T. crassum* (1)
6. Conidiophores entirely effuse, or conidiophores lacking sterile apical elongations .... *T. virens* (20)

7. Conidiation white to buff 8
7. Conidiation eventually green to grey 9

8. Conidiophore with spiral, sterile apical elongation ; conidia ellipsoidal .... *T. polysporum* (13)
8. Conidiophores lacking sterile apical elongation ; conidia subglobose .... *T. piluliferum* (12)

9. Conidiophores with conspicuously roughened, spiral, sterile apical elongation ; conidiation bright greenish yellow or rosy-buff .... *T. croceum* (2)
9. Conidiophores lacking sterile elongation or elongation not roughened ; conidiaton in various green or grey shades 10

10. Conidiophores arranged in pustules up to 2 mm in diameter, glaucous to greyish ; and conidiophore main axis 4.5-7 µm wide over the fertile part .... *Trichoderma* anam. *H. semiorbis* (15)
10. Conidiophores pustules larger, usually in definite green shades ; or conidiophore main axis not exceeding 5.5 µm wide over the fertile part 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. Conidia consistently less than 3.5 µm long and 2.5 µm wide 12
11. Conidia mostly longer and (or) wider 14

12. Conidia subglobose to broadly obovoid .... *T. harzianum* (8)
12. Conidia ellipsoidal 13

13. Conidiogenous area bright green to yellow-green, conidiophore main axis branched and fertile to apex .... *T. minutisporum* (10)
13. Conidiogenous area grey-green, conidiophore main axis with conspicuous spiral sterile apical elongation .... *T. tomentosum* (19)

14. Colony reverse conspicuously pigmented yellow to reddish brown shades ; conidiophore main axis very stout, 4-6.5 µm wide at base of sterile elongation 15
14. Colony reverse colourless to pale dull yellowish ; conidiophore main axis usually 3.5-5 µm wide at bsae of sterile elongation 16

15. Conidiophores main axis relatively straight throughout, the upper part unbranched and nonfertile to near to the apex, that is terminated by a single phialide or more often by 2-3 short fertile branches .... *T. fertile* (4)
15. Conidiophore main axis with a spiral, sterile apical elongation , never with fertile branches near the apex .... *T. spirale* (16)

16. Conidia frequently longer than 4.5 µm, never shorter than 3.5 µm 17
16. Conidia rarely longer than 4.5 µm, often shorter than 3.5 µm 18

17. Conidiophore main axis with undulate to spiral sterile elongation that is highly branched and anastomosing to within 100 µm of the acute apex .... *T. longipilis* (9)
17. Conidiophore main axis with a straight to flexuous sterile elongation that is sparingly branched with a bluntly rounded apex .... *T. oblongisporum* (11)

18. Conidiophore main axis with straight to flexuous sterile elongation 19
18. Conidiophore main axis with undulate to coiled or circinate, sterile elongation 20

19. Conidiogenous pustules bluish green, appearing spiny owing to presence of stiff, javelin-like sterile conidiophore apices .... *T. strigosum* (18)
19. Conidiogenous pustules dull green, appearing hairy owing to presence of very long, straight or flexuous sterile conidiophore apices .... *T. strictipilis* (17)

20. Conidiogenous pustules bluish green, appearing velvety owing to presence of strongly undulate or hamate, sterile conidiophre apices .... *T. harmatum* (7)
20. Conidiogenous pustules bluish green, surface appearing downy owing to presence of branched, undulate, thin, sterile conidiophore apices .... *T. pubescens* (14)
20. Conidiogenous pustules bluish green, appearing woolly owing to presence of coarse, spiral, conidiophore apices .... *T. spirale* (16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ.

Synoptic key (Bissett. 1991b)

Mycelium	Species No [1]
(a) Aerial hyphae up to 1.5 μm in diameter	3
(b) Aerial hyphae exceeding 1.5 μm in diameter	1,2,4-20
Chlamydospores	
(a) Lacking	2,6,9
(b) Small (< 10 μm in diameter), wall < 1 μm wide	2,3,6,8,10-13,16,17,19
(c) Large (> 10 μm in diameter), wall > 1 μm wide	1,4,5,7,8,14-16,18-20
Conidiation	
(a) Effuse	1,5,8,10,15,20
(b) Spreading, flat pustules	1,5,8,10
(c) Small fascicles	3,6,12
(d) Compact, hemispherical pustules	2,4,7-9,11,13,-19
Sterile apical elongation (at maturity)	
Shape	
(a) Lacking sterile elongations	3,5,6,8,10,12,20
(b) Straight	1,4,11,15,17,18
(c) Flexuous, undulate, circinate or hamate	3,7,9,11,14,15
(d) Coiled or spiral	2,13,16,19
Ornamentation	
(a) Tuberculate	2,13
(b) Smooth	1,4,7,9,11,13-19
Conidia	
Colour in mass	
(a) white	12,13
(b) Grey to grey-green	9,11,15
(c) Bright to dark green..	1-4,6-8,10,14,16-20
(d) Brown	5
Shape	
(a) Subglobose	8,12
(b) Obovoid to broadly ellipsoid, maximum size exceeding 4 x 3 μm..................................	1,5,6,20
(c) Ellipsoidal, maximum size not exceeding 4 x 3 μm	2-4,6,7,10,13-19
(d) Oblong to cylindrical, maximum length exceeding 4.5 μm	4,9,11,15
Culture	
Growth rate (MA, 20 °C, 4d)	
(a) Rapid (> 6.5 cm)	1,3-5,7-11,14,16,19,20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(b) Moderate (5-6.5 cm) 2,3,7,13-15,17-19

(c) Slow (< 5 cm) 6,12,15

Reverse pigment (PDA)

(a) Colourless to buff 2,7,8-13,16-18

(b) Dull yellowish to amber 1,3,5,6,8,10-15,18-20

(c) Bright yellow, or greenish to reddish 4,10,16

[1] These numbers refer to the 20 species that are described following this key

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1 ในการยับยั้งการเกิดโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียน เปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. atroviride* ไอโซเลท S5-1 โดยปักชำกิ่งพันธุ์โป๊ยเซียนพันธุ์แดงอุดมในดินที่มีใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับกล้าเชื้อสาเหตุโรค และดินที่ไม่ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ใส่แต่กล้าเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว โดยมีดินที่ไม่ใส่กล้าเชื้อชนิดใด ๆ เลยเป็นกรรมวิธีควบคุม หลังปักชำเป็นเวลา 30 วัน พบว่าแต่ละกรรมวิธีให้จำนวนต้นรอดตายดังแสดงในตารางผนวกที่ 1 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตายมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางผนวกที่ 2) จึงนำข้อมูลค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตายไปทำ Duncan's multiple range test (DMRT) เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตายของแต่ละกรรมวิธีว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยหามีขั้นตอนดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1</u>. คำนวณหาค่า Least significant difference (LSD) โดยใช้สูตร

$$LSD_{.05} = t_{.05}\sqrt{2S^2/r}$$

เมื่อ S^2= means square for error , r = จำนวนซ้ำ และ t คือค่าที่ได้จากตาราง t ที่ degrees of freedom ของ error

$$LSD_{.05} = 2.306\sqrt{2(66.67)/3} = 15.37$$

<u>ขั้นตอนที่ 2.</u> คำนวณหาค่า Shortest significant differences (SSD) โดยใช้สูตร

$$SSD = R(LSD)$$

เมื่อ R = ค่าที่ได้จากตาราง significant studentized factors ที่ n เท่ากับ degrees of freedom ของ error และ P คือจำนวนกรรมวิธีที่ทดลอง

P	R	SSD
2	1.00	15.37
3	1.04	15.98
4	1.06	16.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกิ่งพันธุ์ต้นโป๊ยเซียน หลังจากปักชำในดินใบก้ามปูที่มีกรรมวิธีปฏิบัติที่แตกต่างกัน หลังปักชำ 30 วัน

กรรมวิธีที่ใช้[1/]	จำนวนต้นที่รอดตาย				
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	รวม	เฉลี่ย*
1. TK+Phy	80	100	80	260	86.67
2. TA+Phy	0	0	0	0	0.00
3. Phy	0	0	0	0	0.00
4. Control	100	100	80	280	93.33

[1/] = กรรมวิธีที่ปฏิบัติต่อดินใบก้ามปูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วมีวิธีปฏิบัติดังต่อไปนี้

TK+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1 และกล้าเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* บ่มดิน 2 วันก่อนปักชำ

TA+Phy = ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma atroviride* ไอโซเลท S5-1 และกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* บ่มดิน 2 วันก่อนปักชำ

Phy = ใส่ผง diatomaceous earth แทนกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และใส่กล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* บ่มดิน 2 วันก่อนปักชำ

Control = ใส่ผง diatomaceous earth แทนกล้าเชื้อรา *Trichoderma* sp. และทรายผสมข้าวโอ๊ตแทนกล้าเชื้อรา *P. nicotianae* var. *parasitica* บ่มดิน 2 วันก่อนปักชำ

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Tabular F	
					5%	1%
Treatment	3	24,366.66	8,12.22	121.82**	4.07	7.59
Error	8	533.34	66.67			
Total	11	24,900.00	2,263.64			

** ต่างกันทางสถิติ (P=0.01)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ขั้นตอนที่ 3</u>. นำค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตายของแต่ละกรรมวิธีมาเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย

กรรมวิธี	Control	TK+Phy	TA+Phy	Phy
ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตาย	93.33	86.67	0.00	0.00

จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่มากที่สุดลบด้วยค่า SSD (p = 4) ที่มีค่ามากที่สุด (93.33 - 16.29 = 77.04) แสดงว่าค่าเฉลี่ยทุกค่าที่น้อยกว่า 77.04 แตกต่างจาก control ในที่นี้คือ TA+Phy และ Phy ส่วน TK+Phy เมื่อหาผลต่างกับ Control = 93.33 - 86.67 = 6.66 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า SSD (p = 4) = 16.29 ได้ 6.66<16.29 ดังนั้นจึงลากเส้นจากค่าเฉลี่ย Control ไปยัง TK+Phy เนื่องจากไม่แสดงความแตกต่าง

กรรมวิธี	Control	TK+Phy	TA+Phy	Phy
ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตาย	93.33	86.67	0.00	0.00

<u>ขั้นตอนที่ 4.</u> นำค่าเฉลี่ยตัวถัดมาคือ 86.67 ลบด้วยค่า SSD (p = 3) ที่ถัดมาคือ 15.98 ได้เท่ากับ 70.69 แสดงว่าค่าเฉลี่ที่ที่ค่าน้อยกว่า 70.69 จะแตกต่างจาก TK+Phy ในที่นี้คือ TA+Phy และ Phy ดังนั้นค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตายของกรรมวิธี TK+Phy มีความแตกต่างจากกรรมวิธี TA+Phy และ Phy เมื่อลากเส้นที่ตำแหน่งค่าเฉลี่ย TK+Phy

กรรมวิธี	Control	TK+Phy	TA+Phy	Phy
ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตาย	93.33	86.67	0.00	0.00

<u>ขั้นตอนที่ 5.</u> ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตายของกรรมวิธี TA+Phy และ Phy มีค่าเท่ากันจึงไม่ต้องคำนวณต่อ ดังนั้นจึงลากเส้นจากค่าเฉลี่ย TA+Phy ไปยัง Phy เนื่องจากไม่แสดงความแตกต่าง

กรรมวิธี	Control	TK+Phy	TA+Phy	Phy
ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรอดตาย	93.33	86.67	0.00	0.00

<u>ขั้นตอนที่ 6.</u>. เนื่องจากเส้นที่ 2 ไม่ได้ลากเลยจากเส้นที่ 1 จึงตัดออกเส้นที่ 2 ออกเหลือเพียงเส้นที่ 1 และเส้นที่ 2 จากนั้นให้อักษร a แทนเส้นที่ 1 และ b เส้นที่ 3 จะได้ดังตารางผนวกที่ 3

จึงสรุปได้ว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนต้นที่รอดตายในกรรมวิธี TK+Phy ที่ใส่กล้าเชื้อรา *Trichoderma koningii* ไอโซเลท R1-1 และกรรมวิธีควบคุม Control ที่ไม่มีการใส่กล้าเชื้อใด ๆ ในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ 5 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธีที่ใช้	ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่รอดตาย
1. Control	93.33 a[1/]
2. TK+Phy	86.67 a
3. TA+Phy	0.00 b
4. Phy	0.00 b

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ 5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายธวัชชัย เปรมศรี เกิดเมื่อวันที่ 7 สิงหาคม 2514 ที่จังหวัดปราจีนบุรี สำเร็จการศึกษาหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อวันที่ 24 มีนาคม 2536 และเข้าศึกษาต่อหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อวันที่ 3 มิถุนายน 2539 จนถึง พ.ศ. 2543

ผลงานการวิจัยที่เคยตีพิมพ์เผยแพร่

- Thanaboripat, D., T. Premsri, N. Punbusayakul and O. Sukcharoen. 1996. "Effects of food preservatives on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* in liquid medium." **ASEAN Food J.** 11(2) : 61-64.
- ธวัชชัย เปรมศรี, นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ คุษณี ธนะบริพัฒน์. 2541. "เชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* สาเหตุชนิดใหม่ของโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าโป๊ยเซียน." ใน **CD-ROM รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์สาขาพืช ครั้งที่** 36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธวัชชัย เปรมศรี, นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ คุษณี ธนะบริพัฒน์. 2542. "การคัดเลือกพืชสกุล *Euphorbia* บางชนิดที่ต้านทานโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของโป๊ยเซียนเนื่องจากเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*." หน้า 284-294. ใน **เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ 30 ปี เกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,** 24-25 มิถุนายน 2542. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Phensaijai, M., M. Apinthanapong, T. Premsri and N. Punbusayakul. 1999. "Cadmium reduction by *Bacillus megatherium*, *Proteus vulgaris* and *Zoogloea ramigera*." In **CD-ROM The 5th Asia-pacific Biochemical Engineering Conference 1999 and the 11th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology**. 15-18 November 1999. Phuket, Arcadia Hotel & Resort. Phuket. Thailand.
- ธวัชชัย เปรมศรี, นิพนธ์ วิสารทานนท์ และ คุษณี ธนะบริพัฒน์. 2543. "การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อควบคุมเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* เชื้อราสาเหตุโรคโคนต้นเน่าและรากเน่าของต้นโป๊ยเซียน (*Euphorbia milii*)." หน้า 468-480. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 38 สาขาพืช,** 1-4 กุมภาพันธ์ 2543. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-Premsri, T., N. Visarathanonth, and D. Thanaboripat, 2000. "Resistance of *Euphorbia* spp. to *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and its control by *Trichoderma*" In **Proceedings of International Plant Pest Biological Control Symposium.** 5-7 June 2000. P R China : Harbin Institute of Technology.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้