

2. การพิสูจน์สาเหตุการเกิดโรค

ขั้นตอนในการพิสูจน์โรค

1. ตรวจสอบแผลที่ต้องการพิสูจน์โรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดเชื้อที่พบ จากนั้นทำการแยกเชื้อที่พบ เริ่มจากเลือกแผลที่ไม่ใหม่และเก่าจนเกินไปและตรวจสอบแล้วว่ามีอาการของเชื้อที่คาดว่าจะเป็นเชื้อสาเหตุอยู่ ล้างแผลผ่านน้ำไหล จากนั้นตัดแผลด้วยมีดผ่าตัดตรงบริเวณรอยต่อของแผลและเนื้อเยื่อปกติ ขนาดประมาณ 0.3×0.3 เซนติเมตร นำชิ้นพืชที่ตัดไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70 % นาน 10 วินาที ตามด้วยการแช่ชิ้นพืชใน Clorox[®] 4 % นาน 20 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นมาเชื้อ 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูมาเชื้อ ตัดขอบชิ้นพืชทั้ง 4 ด้าน ออกเล็กน้อยในส่วนที่ถูกสารเคมีทำลาย วางชิ้นพืชลงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA (potato dextrose agar) จำนวน 5 ชิ้น ต่อจานอาหาร หลังจากนั้น 3-5 วัน ให้ตรวจดูการเจริญของเชื้อรา เพื่อแยกโคโลนีเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นพืช จากนั้นเลี้ยงเชื้อราให้บริสุทธิ์บนอาหารเพื่อใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป

2. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นพืช เริ่มจากเลือกกล้าต้นกล้วยไข่ที่มีลำต้นแข็งแรง ใบไม่เป็นโรคหรือผลกล้วยไข่ที่สะอาดปราศจากโรค มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ ตามด้วยการฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % นาน 5 นาที สำหรับใบกล้วยและ 1 นาที สำหรับผลกล้วย จากนั้นล้างแอลกอฮอล์ออกด้วยน้ำกลั่นมาเชื้อหรือเช็ดออกด้วยกระดาษทิชชูมาเชื้อ เจาะชิ้นไม้ที่มีการเจริญของเชื้อราสกุลต่างๆ ด้วย cork borer วางชิ้นไม้ตรงตำแหน่งที่มีการทำบาดแผลจากการใช้เข็มปลายแหลมฉีดยาและทิ้งจนเย็นแล้วแทงบนใบกล้วยหรือผลกล้วย 1 ครั้ง หลังจากปลูกเชื้อจนครบทุกเชื้อแล้วให้ทำ moist chamber จากการคลุมต้นกล้วยด้วยถุงพลาสติกภายในบรรจุน้ำ มัดปากถุงให้แน่น (ภาพที่ 23) ส่วนการปลูกเชื้อที่ผลกล้วยหลังจากวางเชื้อบนผลกล้วยไข่แล้ว ให้นำผลกล้วยวางในกล่องพลาสติกที่ล้างทำความสะอาด ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 % และเช็ดออกด้วยกระดาษทิชชูมาเชื้อเรียบร้อยแล้ว คลุมกล่องพลาสติกด้วยถุงพลาสติกใส พร้อมทั้งบรรจุน้ำภายในถุง มัดปากถุงให้แน่น (moist chamber) โดยกล้วย 1 ผลจะปลูกเชื้อ 1 ชนิด จำนวน 3-4 แผล หรือซ้ำดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 23 ลักษณะการทำ moist chamber ในขั้นตอนการปลูกเชื้อที่ใบและผลกล้วยไข่

หลังจากปลูกเชื้อที่ไบนาน 15 วันให้ตรวจสอบแผลที่เกิดขึ้นตรงตำแหน่งที่มีการวางเชื้อ สำหรับการปลูกเชื้อที่ผลกล้วยให้ตรวจสอบหลังจากปลูกเชื่อนาน 7 วัน บันทึกรายละเอียด พร้อมถ่ายภาพ จากนั้นนำแผลที่มีลักษณะคล้ายอาการเริ่มแรกมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์และแยกเชื้ออีกครั้งว่าเป็นเชื้อชนิดเดิมหรือไม่

หมายเหตุ การทำแผลโดยใช้เข็มปลายแหลมแทงบนใบหรือผลกล้วยไข่ 1 ครั้ง ก่อนการปลูกเชื้อทดสอบมีจุดประสงค์เพื่อสร้างช่องทางให้เชื้อเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น ทั้งนี้เป็นการลดระยะเวลาในการพิสูจน์เชื้อสาเหตุโรค

ผลการพิสูจน์โรคกล้วยไข่ในแปลงวิจัยที่สำรวจพบ

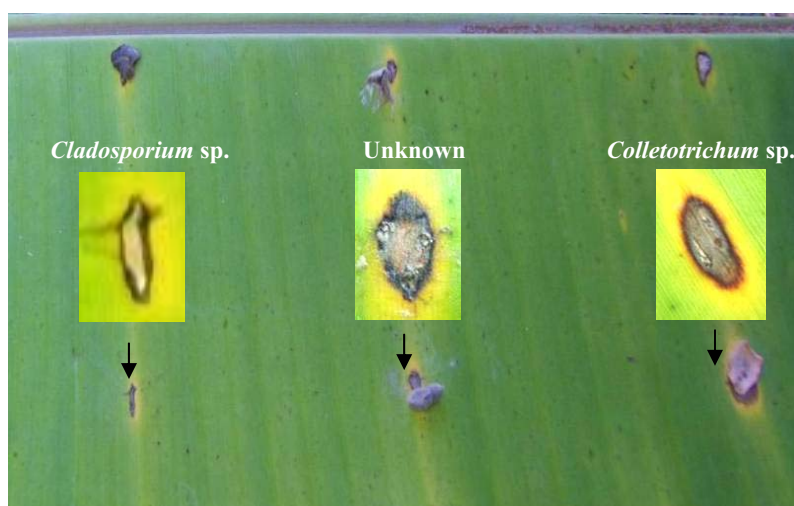
อาการใบจุดสีขาว ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะค่อนข้าง ยาวรี

ดังแสดงในภาพที่ 1 ข้างต้น หลังจากตรวจดูเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์บริเวณแผลในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Cladosporium* sp. และ *Colletotrichum* sp. และจากการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp. และ Unknown เมื่อทำการพิสูจน์โรคโดยการปลูกเชื้อกลับลงบนใบต้นกล้วยไข่ (ภาพที่ 23) พบว่า เชื้อราทั้ง 3 ชนิด ทำให้ใบกล้วยเป็นโรค ดังแสดงในภาพที่ 25 แต่ไม่มีเชื้อชนิดใดแสดงอาการเหมือนแผลเริ่มแรก

ผลการตรวจเอกสารและการสำรวจแปลงกล้วยไข่ในพื้นที่อื่นๆ พบว่าอาการดังกล่าวคล้ายอาการของโรคใบจุดชิคาโตกาชนิดเหลือง จึงทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการอีกครั้ง ซึ่งสกุลเชื้อราสาเหตุโรคที่รายงานคือ *Pseudocercospora musae* (รายละเอียดของโรคแสดงในแผลจุดสีน้ำตาลขอบสีดำ ภายในพบจุดสีดำขนาดเล็ก รอบแผลมีสีเหลือง; ภาพที่ 17) เชื้อราสกุลนี้ปกติมีการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างช้ามาก ผลการปลูกเชื้อบนต้นกล้วยไข่ในครั้งแรกพบว่าใบกล้วยยังไม่แสดงอาการของโรค ขณะนี้อยู่ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อราที่คาดว่าจะน่าจะเป็นสาเหตุโรค เมื่อเชื้อโตพอที่จะนำไปใช้ในการปลูกเชื้อ จึงจะทำการทดสอบในขั้นต่อไปอีกครั้ง



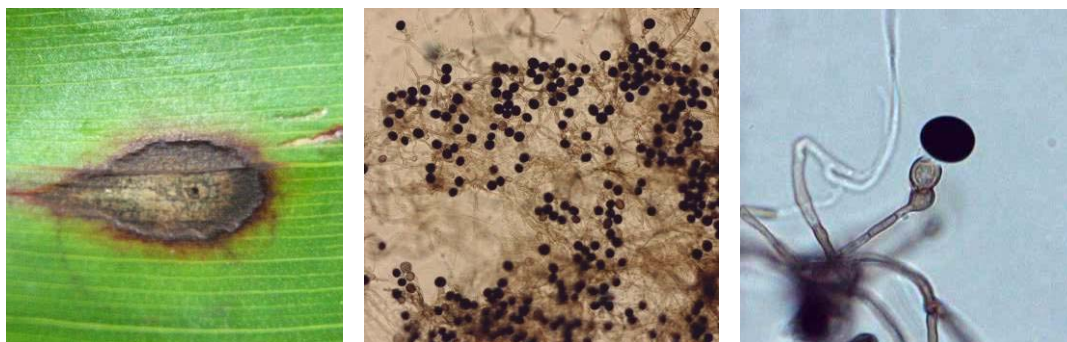
ภาพที่ 24 การปลูกเชื้อราที่แยกได้จากแผลจุดสีขาว ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะค่อนข้าง ขาวรี
 ก. ชิ้นวัสดุที่มีเชื้อราชนิดต่าง ๆ บนใบกล้วยไข่ เพื่อทดสอบการเกิดโรค
 ข. ถุงชื้น (moist chamber) ที่ใช้พิสูจน์โรค



ภาพที่ 25 ผลการปลูกเชื้อราบนใบต้นกล้วยไข่ที่แยกได้จากแผลใบจุด หลังจากปลูกเชื้อนาน 10 วัน
 (ช่วงปลายเดือน ตุลาคม 2549)

แผลจุดสีน้ำตาลอ่อนขอบสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะบุ๋มลึกเนื้อใบ ที่แสดงในภาพที่ 20

ผลการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการและจากการปลูกเชื้อทดสอบสรุปว่าเกิดจากเชื้อรา
Nigrospora sp. (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อและสปอร์เชื้อรา *Nigrospora* sp. สาเหตุโรค

ใบจุดลาย สีน้ำตาลแดง ขนาดเล็ก ที่แสดงในภาพที่ 9

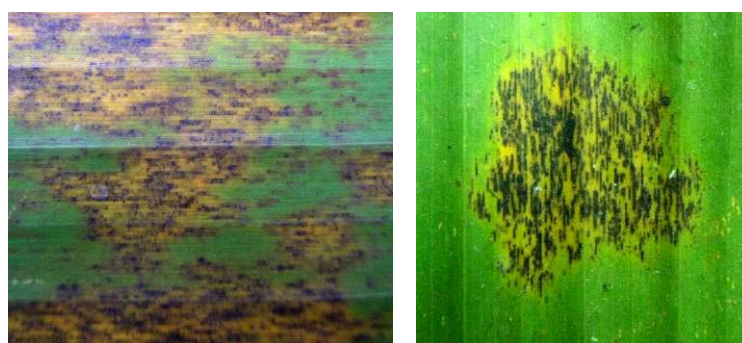
ผลการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการและจากการปลุกเชื้อทดสอบสรุปว่าเกิดจากเชื้อรา *Deightonella* sp. (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อและสปอร์เชื้อรา *Deightonella* sp. สาเหตุโรค

โดยส่วนใหญ่ตัวอย่างแผลที่เก็บมาตรวจสอบมักมีการเจริญของเชื้อราอยู่หลายชนิด หลังจากแยกเชื้อจนบริสุทธิ์และทดสอบความสามารถในการเกิดโรคด้วยวิธีปลุกเชื้อบนใบแล้วพบว่าเชื้อราดังกล่าวทำให้ใบกล้วยไข่แสดงอาการของโรคได้ จากการตรวจเอกสารสามารถสรุปอาการได้ดังนี้

1. ใบขีดสีดำ (ภาพที่ 28) ที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* sp. (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 28 อาการใบขีดสีดำที่พบในสภาพธรรมชาติ



ภาพที่ 29 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อและสปอร์เชื้อรา *Cladosporium* sp. สาเหตุโรค

2. จุดสีน้ำตาล ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 30) เกิดจากเชื้อราชั้นสูง เนื่องจากเชื้อยังไม่สร้างสปอร์จึงไม่สามารถจำแนกสกุลได้



ภาพที่ 30 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อ

3. จุดสีน้ำตาล ขอบแผลสีดำเข้ม (ภาพที่ 31) เกิดจากเชื้อราชั้นสูง เนื่องจากเชื้อยังไม่สร้างสปอร์จึงไม่สามารถจำแนกสกุลได้



ภาพที่ 31 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อ

4. จุดสีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลสีดำ ลักษณะเป็นวงซ้อน (ภาพที่ 32) เกิดจากเชื้อราชั้นสูง สปอร์ รูปร่างกลม ใส 1 เซลล์



ภาพที่ 32 ลักษณะของแผลที่เกิดจากการปลุกเชื้อ

สรุปงานวิจัย

ในช่วงเริ่มแรกของการทดลองซึ่งเป็นช่วงการเตรียมแปลงปลูกและต้นกล้า การเข้าทำลายของโรคกับส่วนของลำต้นและใบ ยังมีไม่มากนัก ยกเว้นการเตรียมต้นกล้าที่อาจประสบปัญหาการเข้าทำลายของเชื้อราซึ่งในจุดนี้ต้องให้ความสำคัญ เนื่องจากเกิดความเสียหายกับต้นกล้วยไข่ทั้งต้น

หลังจากย้ายกล้าต้นกล้วยไข่ลงปลูกในแปลงวิจัยสำรวจพบอาการใบจุดทั้งที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราและการฉีกพินยาฆ่าหญ้า โดยรวมแล้วความเสียหายที่พบยังมีไม่มากนัก (minor importance) ยกเว้นอาการใบจุดชิกาโตกาขีดเหลืองที่พบในจังหวัดนครสวรรค์ เหมือนกับการรายงานของ Ploetz *et al.* (2003) Fitopatologia.nat (2007) และ Species Profiles for Pacific Island Agroforestry (2007) ที่รายงานถึงความเสียหายที่เกิดจากโรคใบจุดชิกาโตกากับกล้วยว่าพบการระบาดของโรคนี้เสมอในพื้นที่เขตร้อน ชื้น โดยเฉพาะในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแปซิฟิกใต้

อาการใบจุดที่พบจากการสำรวจและผลการพิสูจน์โรคสามารถสรุปได้ว่าอาการจุดเกิดได้จากเชื้อราสาเหตุหลายชนิดซึ่งในบางครั้งมีลักษณะจุดที่คล้ายกันมากหลังจากการปลุกเชื้อบนใบ ทั้งนี้ผลสรุปที่เขียนในรายงานข้างต้นได้รวบรวมจากการตรวจสอบเชื้อราที่พบในตัวอย่างแผลที่เก็บมาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และผลจากการพิสูจน์โรค รวมทั้งการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง โดยนำข้อมูลทั้งสามส่วนมาพิจารณาร่วมกันแล้วจึงสรุปหาสาเหตุที่มีแนวโน้มใกล้เคียงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2550. คลินิกพืช: กกล้วย. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา:
[http:// www. plantpro.doae.go.th/plantclinic/clinic/plant/index.html](http://www.plantpro.doae.go.th/plantclinic/clinic/plant/index.html). (1 มีนาคม 2550).
- นิพนธ์ วิสารทนนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. บริษัท เจ ฟิล์ม โพรเซส
 จำกัด. 172 หน้า.
- Fitopatologia.nat. 2007. Fruteiras/Banana. (online). Available:
<http://www.ufpel.tche.br/faem/dfs/herbario/index.php> (4 March 2007).
- International Society for Plant Pathology. 2007. Committee on Common Names of Plant Diseases
 Banana diseases. (online). Available:
http://www.isppweb.org/names_banana_pathogen.asp (24 July 2007).
- Ploetz, C. R., Thomas, E. J. and Slabaugh, R. W. 2003. Diseases of Banana and Plantain. p73-
 134. In: Diseases of Tropical Fruit Crops. CAB. International.
- Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. 2007. *Musa* species (banana and plantain).
 (online). Available: <http://www.traditionaltree.org> (24 July 2007).

3.2 การศึกษาเชื้อราบนซากใบกล้วยไข่

คำนำ

เชื้อราหลายชนิดสามารถเจริญและอาศัยอยู่ในซากพืชได้ ทั้งนี้เพื่อพักตัวและรอช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ พร้อมทั้งจะเข้าทำลายพืชอาศัยต่อไป เชื้อราที่มีรายงานว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลกล้วยได้แก่สกุล *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Pseudocercospora* sp., *Nigrospora* sp., *Deightonella* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Fusicoccum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Drechslera* sp., *Phyllosticta* sp. และ *Cordana* sp. เป็นต้น จากการรายงานพบว่าเชื้อราที่สร้างความเสียหายให้กับกล้วยไข่อยู่เสมอคือ *Pseudocercospora* sp. ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดอาการใบจุดชิกาโตกา เกษตรกรมักแก้ไขโดยการตัดแต่งใบที่เป็นโรคทิ้งแต่โดยมากไม่มีการเก็บไปเผาทำลาย ด้วยเหตุนี้จึงมักพบการระบาดของโรคอยู่เสมอ ส่วนเชื้อราสาเหตุที่สำคัญของอาการผลเน่าหลังเก็บเกี่ยวคือ *Fusarium* sp. และ *Colletotrichum* sp. (Ploetz et al., 2003) มีผลทำให้คุณภาพผลผลิตลดลงและขายไม่ได้ราคา

การตรวจสอบเชื้อราที่เจริญบนซากใบพืชสามารถบอกแนวโน้มในการเกิดโรคกับต้นกล้วยและผลกล้วยได้ ทั้งนี้เพื่อจะได้หาวิธีการป้องกันที่เหมาะสมและทันเวลาหรือลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจสอบสกุลของเชื้อราที่สามารถเจริญบนซากใบกล้วยไข่ได้
2. เพื่อทดสอบความสามารถของเชื้อราที่ตรวจพบในการทำให้เกิดโรคกับกล้วยไข่

วิธีการวิจัย

1. ตรวจสอบสกุลของเชื้อราที่เจริญบนซากใบกล้วยไข่

วิธีการตรวจสอบเริ่มจากสุ่มเก็บใบกล้วยไข่ที่แสดงอาการใบจุดชิกาโตกาหลังการตัดแต่งใบที่เป็นโรค นาน 1 วัน ในแปลงวิจัย จ.นครสวรรค์ นำใบกล้วยไข่ไปฟุ้งลมให้แห้ง แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติกใส หลังจากนั้น 15 60 และ 90 วัน ให้สุ่มใบกล้วยไข่มาบ่มเชื้อในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิดมิดชิดซึ่งฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % และเช็ดออกด้วยกระดาษทิชชูฆ่าเชื้อแล้ว ภายในกล่องพลาสติกจะมีตะแกรงหรือจานแก้ว เพื่อใช้เป็นที่ยางใบกล้วยและบรรจุน้ำสูงจากพื้นกล่องประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร เพื่อให้กล่องพลาสติกอยู่ในสภาพที่ชื้นตลอดเวลาในลักษณะเป็น moist chamber ดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อครบกำหนด 10 วัน ให้ตรวจสอบสกุลของเชื้อราที่เจริญบนใบกล้วยไข่และแยกเชื้อราจนบริสุทธิ์ด้วยวิธี

dilution plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ที่ผสม rose bengal อัตรา 0.75 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับใบกล้วยและผลกล้วยต่อไป



ภาพที่ 1 ลักษณะกล่องพลาสติกที่ใช้บ่มเชื้อราบนใบกล้วยไข่

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับกล้วยไข่

เชื้อราที่แยกจนบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA (potato dextrose agar) อายุ 10 วัน จะถูกจำแนกสกุลและนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับใบกล้วยและผลกล้วยไข่ วิธีการปลูกเชื้อบนใบกล้วยไข่ใช้วิธี detached leaf บนต้นกล้วยไข่ เริ่มจากการเลือกต้นกล้วยไข่อายุ 2 เดือนหลังย้ายปลูกในกระถางที่มีลำต้นแข็งแรงที่สำคัญคือใบไม่เป็นโรคมาล้างด้วยน้ำสะอาดทั้งหน้าใบและหลังใบ ตามด้วยการฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % ทิ้งไว้นาน 5 นาที จากนั้นเช็ดแอลกอฮอล์ออกด้วยกระดาษทิชชูฆ่าเชื้อ เจาะขึ้นรู้นเชื้อราที่ต้องการทดสอบขนาด 1 เซนติเมตร ด้วย cork borer มาวางบนใบกล้วยตรงตำแหน่งที่มีทำแผลจากการใช้เข็มปลายแหลมขนาดเล็กลนไฟฆ่าเชื้อแล้วแทงใบกล้วยเป็นแผลขนาดเล็ก 1 แผล เชื้อราแต่ละสกุลจะทำการปลูกเชื้อ 3 ครั้ง (3 ซ้ำ) เมื่อปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้วต้นกล้วยไข่จะถูกบ่มเชื้อในสภาพที่มีความชื้นตลอดเวลา เพื่อส่งเสริมให้เชื้อรามีการเจริญที่ดี โดยการทำเป็น moist chamber ในถุงพลาสติกที่บรรจุน้ำอยู่ภายในและมัดถุงด้วยยางวง ดังแสดงในภาพที่ 2 หลังจากปลูกเชื้อนานประมาณ 15 วัน ให้ตรวจสอบอาการของโรคบริเวณที่วางเชื้อรา พร้อมบันทึกรายละเอียดและถ่ายภาพ



ภาพที่ 2 ลักษณะของขึ้นรูนเชื้อราที่วางบนใบกล้วยไข่และ moist chamber ที่ทำจากถุงพลาสติก

สำหรับวิธีการปลูกเชื้อบนผลทำโดย เลือกผลกล้วยไข่ที่อยู่ในระยะใกล้สุก สีของเปลือกมีสีเขียวเหลือง เนื้อผลไม้ไม่แข็งมากนัก จากนั้นตัดผลกล้วยเป็นผลเดี่ยว ๆ แล้วนำไปล้างด้วยน้ำสะอาด ฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % นาน 3 นาที เช็ดแอลกอฮอล์ออกด้วยกระดาษทิชชูที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางผลกล้วยลงในกล่องพลาสติกที่ล้างน้ำสะอาด ตามด้วยการฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % นาน 5 นาที และเช็ดออกด้วยกระดาษทิชชูฆ่าเชื้อแล้ว การปลูกเชื้อที่ผลมีวิธีการทำคล้ายกับการปลูกเชื้อบนใบคือวางเชื้อราทดสอบบนแผ่นที่ทำไว้ จำนวน 4 ชิ้น เมื่อวางเชื้อเรียบร้อยแล้วให้คลุมกล่องพลาสติกด้วยถุงพลาสติกใสและใส่น้ำในถุงปริมาณ 200 มิลลิลิตร มัดปากถุงให้แน่น ทำเป็น moist chamber เพื่อรักษาความชื้น (ภาพที่ 3) หลังจากปลูกเชื้อนาน 7 วัน ให้ตรวจสอบความผิดปกติบริเวณที่วางเชื้อราทดสอบ

กำหนดใบกล้วย 1 ใบ สามารถปลูกเชื้อได้ 4-5 ชนิด ส่วนกล้วยไข่ 1 ผล ให้ปลูกเชื้อราทดสอบเพียง 1 ชนิดเท่านั้น



ภาพที่ 3 ลักษณะ moist chamber ที่ทำจากกล่องพลาสติกใสคลุมด้วยถุงพลาสติก

ผลการวิจัย

1. ตรวจสอบสกุลของเชื้อราที่เจริญบนซากใบกล้วยไข่

จากการตรวจสอบพบว่าระยะ 15 วัน หลังจากการเก็บใบกล้วยในสภาพแห้งมีเชื้อราจำนวน 12 สกุล ที่สามารถเจริญบนซากใบกล้วย ได้แก่ *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Choanephora* sp., *Drechslera* sp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* sp., *Nigrospora* sp., *Colletotrichum* sp., *Pseudocercospora* sp. (ระยะ anamorph ของ *Mycosphaerella* sp.), *Deightoniella* sp. และราชั้นสูงไม่ทราบสกุล อีก 2 สกุล เนื่องจากเชื้อไม่สร้างหน่วยสืบพันธุ์ (สปอร์) จึงไม่สามารถจำแนกได้ ผลการตรวจสอบระยะ 60 วัน พบการเจริญของสกุลราจำนวน 10 สกุล ได้แก่ *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Nigrospora* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Pseudocercospora* sp., *Deightoniella* sp. และราชั้นสูงไม่ทราบสกุล อีก 2 สกุล สำหรับผลการตรวจสอบระยะ 90 วัน พบสกุลเชื้อราจำนวน 11 สกุล ได้แก่ *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Nigrospora* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Pseudocercospora* sp., *Deightoniella* sp. และราชั้นสูง

ไม่ทราบสกุล อีก 2 สกุล ลักษณะเชื้อราที่เจริญบนใบกล้วยไข่แสดงในภาพที่ 3 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราสามารถเจริญร่วมกันได้ในพื้นที่เดียวกัน โดยเฉพาะเชื้อรา *Fusarium* spp. และ *Aspergillus* spp. มีพื้นที่ในการเจริญมากกว่าเชื้อราชนิดอื่นและยังมีจำนวนสปอร์มาก ประกอบกับเชื้อราที่ตรวจพบบางสกุลมีปริมาณน้อย จึงมีผลทำให้การแยกเชื้อราในสกุลที่เจริญเติบโตช้าและมีปริมาณน้อยให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไปไม่สามารถทำได้ สกุลเชื้อราดังกล่าวคือ *Pseudocercospora* sp., *Alternaria* sp., และ *Drechslera* sp.



ภาพที่ 3 การเจริญของเชื้อราบนใบกล้วยหลังจากบ่มเชื้อในสภาพชื้นนาน 10 วัน

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับกล้วยไข่

หลังจากขั้นตอนการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ทั้ง 3 ระยะการทดสอบ พบว่ามีเชื้อราจำนวนทั้งหมด 21 ไอโซเลท จำแนกได้เป็น 13 สกุล คือ *Deightoniella* sp., *Nigrospora* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. และเชื้อราชั้นสูงที่ไม่สามารถจำแนกสกุลได้ 6 สกุล (เนื่องจากเชื้อไม่สร้างหน่วยสืบพันธุ์) สามารถเจริญบนซากใบกล้วยไข่ ผลการปลูกเชื้อบนต้นกล้วยพบว่าเชื้อราสกุล *Curvularia* sp., *Cladosporium* sp., *Nigrospora* sp. *Deightoniella* sp. และราชั้นสูงอีก 1 ชนิด สามารถทำให้ใบต้นกล้วยเกิดจุดได้ ตัวอย่างแสดงในภาพที่ 4 และเชื้อราสกุล *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Deightoniella* sp., *Colletotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และราชั้นสูงอีก 2 ชนิด สามารถทำให้ผลกล้วยแสดงอาการเน่าได้ ตัวอย่างแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 4 ลักษณะใบกล้วยไข่ที่แสดงอาการจุดหลังจากปลุกเชื้อรา นาน 15 วัน



ภาพที่ 5 ลักษณะผลกล้วยไข่ที่แสดงอาการเน่าหลังจากปลุกเชื้อรา นาน 7 วัน

D2 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด D5 = *Fusarium* sp. D13 = *Curvularia* sp.

D20 = *Aspergillus* sp.

สรุปและวิจารณ์ผล

ผลการตรวจสอบสกุลเชื้อราที่สามารถเจริญบนซากใบกล้วยไข่ที่แสดงอาการของโรคจุดช้ำกาโตกหลังจากเก็บในสภาพแห้งเป็นระยะเวลานานๆ และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับกล้วยไข่ทั้งส่วนของใบและผลพบว่าเชื้อรา *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* sp., *Nigrospora* sp., *Colletotrichum* sp. และ *Deightonella* sp. ซึ่งเป็นสกุลที่มีรายงานว่าสามารถเข้าทำลาย

พืชตระกูลกล้วยไม้ (Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, 2006) ทำให้ใบและผลกล้วยไม้เกิดโรค ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่าเชื้อราทุกชนิดในสกุลที่กล่าวข้างต้นเป็นสาเหตุโรคทั้งหมด แต่มีเฉพาะบางชนิดเท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคกับกล้วยไม้

นอกจากนี้ยังพบว่าในระยะแรกของการตรวจสอบ เชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคจะมีปริมาณมากแต่เมื่อถึงระยะเวลาในการเก็บให้นานขึ้นกลับพบว่าปริมาณเชื้อราดังกล่าวลดลง ในทางตรงข้ามเชื้อราพวก *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. กลับมีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งในการวิจัยนี้ไม่ได้วางแผนเก็บข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณของเชื้อราที่พบ ข้อสรุปดังกล่าวเป็นเพียงผลจากการสังเกตเท่านั้น ผลโดยรวมของงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อราสาเหตุโรคสามารถอาศัยและพักตัวอยู่ในซากใบกล้วยไม้แห้งได้ ถึงแม้ว่าจะมีสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญก็ตาม แต่เมื่อใดที่สภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญขึ้นมาเชื้อราก็สามารถที่จะเพิ่มปริมาณและปรับสภาพให้พร้อมที่จะเข้าทำลายพืชอาศัยได้อยู่ตลอดเวลา ข้อสังเกตอีกประการคือทุกระยะของการตรวจสอบจะพบเชื้อรา *Pseudocercospora* sp. เจริญอยู่บนซากใบกล้วยไม้เสมอ แต่ไม่สามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้เนื่องจากราสกุลนี้มีการเจริญเติบโตที่ช้ามาก ในระยะเวลา 38 วัน เชื้อราสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้เพียง 1 เซนติเมตร เท่านั้น (Ploetz *et al.*, 2003) ผลการวิจัยข้อนี้จึงสามารถใช้เป็นเหตุผลข้อหนึ่งได้ว่าทำไมจึงเกิดการระบาดของโรคใบจุดช้ำกาโตกาในแปลงนี้อยู่เสมอถึงแม้ว่าจะมีการตัดแต่งใบที่เป็นโรคทิ้งแล้วก็ตาม ดังนั้นถ้าต้องการที่จะลดความรุนแรงของโรคลงนอกจากจะมีการตัดแต่งใบที่เป็นโรคทิ้งแล้วก็ควรที่จะมีการเก็บใบดังกล่าวไปเผาทำลายนอกแปลงปลูกเพื่อลดแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อสาเหตุโรคด้วย และถ้าสามารถเลือกพันธุ์กล้วยไม้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคได้ก็จะลดความเสียหายได้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Ploetz, C. R., Thomas, E. J. and Slabaugh, R. W. 2003. Diseases of Banana and Plantain. p73-

134. In: Diseases of Tropical Fruit Crops. CAB. International.

Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. 2006. *Musa* species (banana and plantain). [Online]

Available <http://www.traditionaltree.org> (24 July 2007).

3.3 การตรวจสอบปริมาณเชื้อราที่ติดบนผิวผลกล้วยไข่

คำนำ

โรคที่เกิดกับกล้วยไข่หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตมักสร้างความเสียหายในด้านคุณภาพที่ลดลงซึ่งส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกร โรคที่สำคัญคือผลเน่า ขั้วหวีเน่า ผลจุด สาเหตุมาจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายสกุล เช่น *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Cercospora* sp. และ *Deightoniella* sp. เป็นต้น ส่วนใหญ่เชื้อราสาเหตุจะติดมากับผิวของผลกล้วยไข่ในแปลงปลูก เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อราจะเริ่มเจริญเพิ่มปริมาณและเข้าทำลายผลกล้วยไข่ การตรวจสอบปริมาณเชื้อราที่ติดมากับผลกล้วยไข่ก่อนการเก็บเกี่ยวอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยประเมินความเสียหายที่จะเกิดกับผลกล้วยไข่ได้ ทั้งนี้เพื่อที่จะได้หาวิธีการป้องกันที่เหมาะสมและทันเวลา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจสอบสกุลและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับผิวผลกล้วยไข่
2. เพื่อตรวจสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรากับกล้วยไข่

วิธีการวิจัย

ทดลองในแปลงปลูกกล้วย 2 พื้นที่ คืออำเภอเด่นชัย จังหวัดแพร่ และอำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ วันที่ 20-21 เมื่อเดือน กรกฎาคม 2550 โดยใช้กล้วยพันธุ์พื้นเมือง ระยะออกปลี ที่จังหวัดแพร่ 3 ต้น และจังหวัดนครสวรรค์ 3 ต้น เก็บตัวอย่างน้ำฝนที่ไหลผ่านเครือกล้วยทั้งหมด 6 ครั้ง (1 สัปดาห์/ครั้ง)

1. ตรวจสอบสกุลและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับผิวผลกล้วยไข่

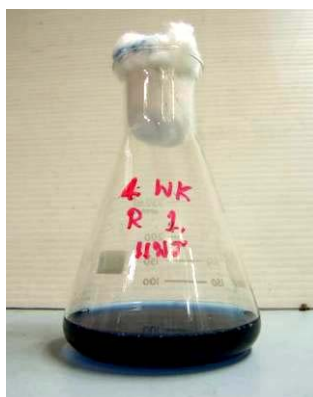
วิธีการตรวจสอบประยุกต์มาจากการทดลองของ Bellaire and Mourichon (1997) เริ่มจากการติดตั้งกรวย (water-borne spore traps) ใต้เครือกล้วยไข่ที่อยู่ในระยะเริ่มออกปลี เพื่อรองรับน้ำฝนที่จะไหลผ่านเครือกล้วย (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 (ก) การตั้งกรวยดักสปอร์ไต้เครือกล้วยไข่ระยะเริ่มออกปลีที่สวนกล้วยไข่พันธุ์พื้นเมืองที่
จังหวัดแพร่ (ข) การตั้งกรวยดักสปอร์ที่จังหวัดนครสวรรค์

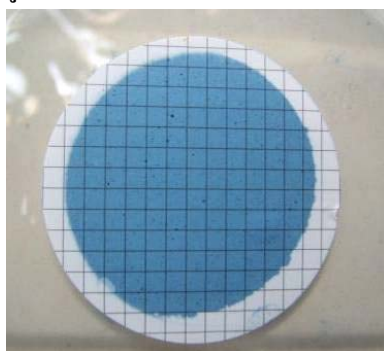
ถังพลาสติกที่ใช้สำหรับเก็บน้ำที่ผ่านเครื่องล้วยจะบรรจุสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา (fixing solution: ethanol 5 ส่วน, acetic acid 96 % 1 ส่วน, น้ำกลั่น 4 ส่วน) กำหนดใช้ถังพลาสติกขนาด 5 ลิตร และบรรจุ fixing solution 100 มิลลิลิตรต่อถัง แต่ละสัปดาห์จะบันทึกปริมาณของน้ำฝนทั้งหมดที่ไหลผ่านเครื่องล้วย จากนั้นเข้าน้ำฝนในถังแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำฝนปริมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดพลาสติก เพื่อนำไปตรวจสอบสกุและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับผิวผลกล้วยไข่ หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำฝนไปตรวจแล้วจะต้องใส่สาร fixing solution ทุกครั้งก่อนที่จะเก็บตัวอย่างน้ำฝนในครั้งต่อไป ระยะเวลาในการตรวจสอบจะใช้เวลา 6 สัปดาห์

สำหรับวิธีการตรวจสอบสกุและปริมาณของเชื้อราทำโดยเขย่าตัวอย่างน้ำฝนที่อยู่ในขวดพลาสติก สุ่มน้ำปริมาณ 50 มิลลิลิตร เทน้ำดังกล่าวผ่านผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงใน flask เพื่อกรองเศษใบไม้หรือวัตถุขนาดใหญ่ออก หยดสีย้อม lactophenol trypan blue 5 % ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงไป จากนั้นนำไปเขย่าด้วย shaker นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ดูดตัวอย่างน้ำปริมาณ 5 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ใน flask นึ่งฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 2) เขย่าให้เข้ากัน



ภาพที่ 2 ตัวอย่างน้ำฝนที่มีสปอร์เชื้อราแขวนลอยและถูกย้อมสีด้วย lactophenol trypan blue 5 %

นำตัวอย่างน้ำที่ได้ไปผ่านเครื่องกรองแบบสุญญากาศ (vacuum-filter) ซึ่งใช้แผ่นกรอง (cellulosic membrane) ชนิดที่มีตาราง (white grid membrane) ขนาดรู 0.45 ไมครอน สปอร์ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำทั้งหมดจะติดอยู่บนแผ่นกรอง (ภาพที่ 3)

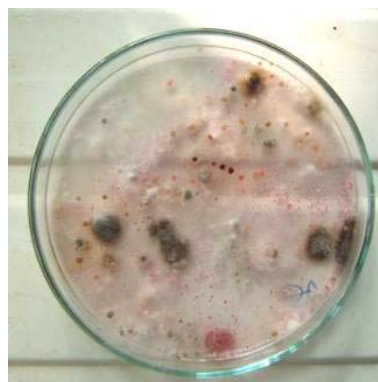


ภาพที่ 3 ลักษณะแผ่นกรองหลังจากที่ผ่านเครื่องกรองแบบสุญญากาศ

ตัดแผ่นกรองตรงพื้นที่บริเวณกลางขนาด 1.0×1.0 เซนติเมตร นำไปวางบนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นค่อยหยด lactophenol ตรงบริเวณขอบกระจกปิดสไลด์ เพื่อให้ lactophenol ค่อยๆ ซึม จนเต็มแผ่นกระจก ตรวจสอบสกุลงูเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound กำลังขยาย 200 เท่าและนับจำนวนสปอร์แต่ละสกุลงูเชื้อราด้วย serial counter

2. ตรวจสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรากับกล้วยไข่

ในแต่ละพื้นที่ให้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำที่ไหลผ่านเครื่องกล้วยหลายๆ ระยะของเครื่องกล้วยรวม 5 ตัน ด้วยการฉีดพ่นน้ำกลั่นมาเชื้อผ่านเครื่องกล้วย โดยไม่ต้องใส่สาร fixing solution ปริมาณน้ำรวม 500 มิลลิลิตร นำน้ำที่ได้มาแยกเชื้อราบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) ที่ผสม rose bengal อัตราผสม 0.75 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร ด้วย spread plate technique หลังจากเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 25-27 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เชื้อราจะสร้างโคโลนีตามลักษณะเฉพาะของแต่ละสกุลงูเชื้อรา (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การแยกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะโคโลนีของเชื้อราแต่ละแบบที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการเจาะขึ้นรู้นบริเวณปลายโคโลนีแต่ละแบบมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA จานใหม่ จนได้เชื้อราที่บริสุทธิ์ (pure culture) นำเชื้อราที่แยกได้ (อายุประมาณ 10 วัน) มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนใบและผลกล้วยไข่ เริ่มจากคัดเลือกต้นกล้วยไข่อายุ 2 เดือน หลังย้ายปลูกลงกระถาง ที่มีลำต้นแข็งแรงและใบไม่เป็นโรค ส่วนผลกล้วยไข่ให้คัดเลือกผลกล้วยที่สะอาดปราศแผล ทำความสะอาดใบและผลกล้วยด้วยน้ำสะอาด ตามด้วยการฉีดพ่นแอลกอฮอล์ 70 % ใบกล้วยทิ้งไว้นาน 5 นาที ผลกล้วยทิ้งไว้นาน 3 นาที ล้างแอลกอฮอล์ออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งมาเชื้อหรือ เช็ดออกด้วยกระดาษทิชชูหมาเชื้อ วางขึ้นรู้นที่มีเชื้อราเจริญ ขนาด 5 มิลลิเมตร ตรงตำแหน่งที่มีการทำแผลจากการใช้เข็มปลายแหลมขนาดเล็กที่ทนไฟมาเชื้อและทิ้งจนเย็นแล้วแทงลงบนใบหรือผล 1 ครั้ง เชื้อราแต่ละสกุลงูจะทำการปลูกเชื้อจำนวน 3-4 แผล (ซ้ำ) กำหนดใบกล้วย 1 ใบ สามารถปลูกเชื้อได้ 4-5 ชนิด ส่วนกล้วยไข่ 1 ผล ให้ปลูกเชื้อราทดสอบเพียง 1 ชนิดเท่านั้น เมื่อปลูกเชื้อราจนครบทุกเชื้อ

แล้วต้นกล้วยจะถูกคลุมด้วยถุงพลาสติกขนาดใหญ่ บรรจุน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตรอยู่ภายใน มัดปากถุงให้แน่นด้วยยางวงหรือปอฟาง เพื่อทำเป็น moist chamber (ภาพที่ 5)



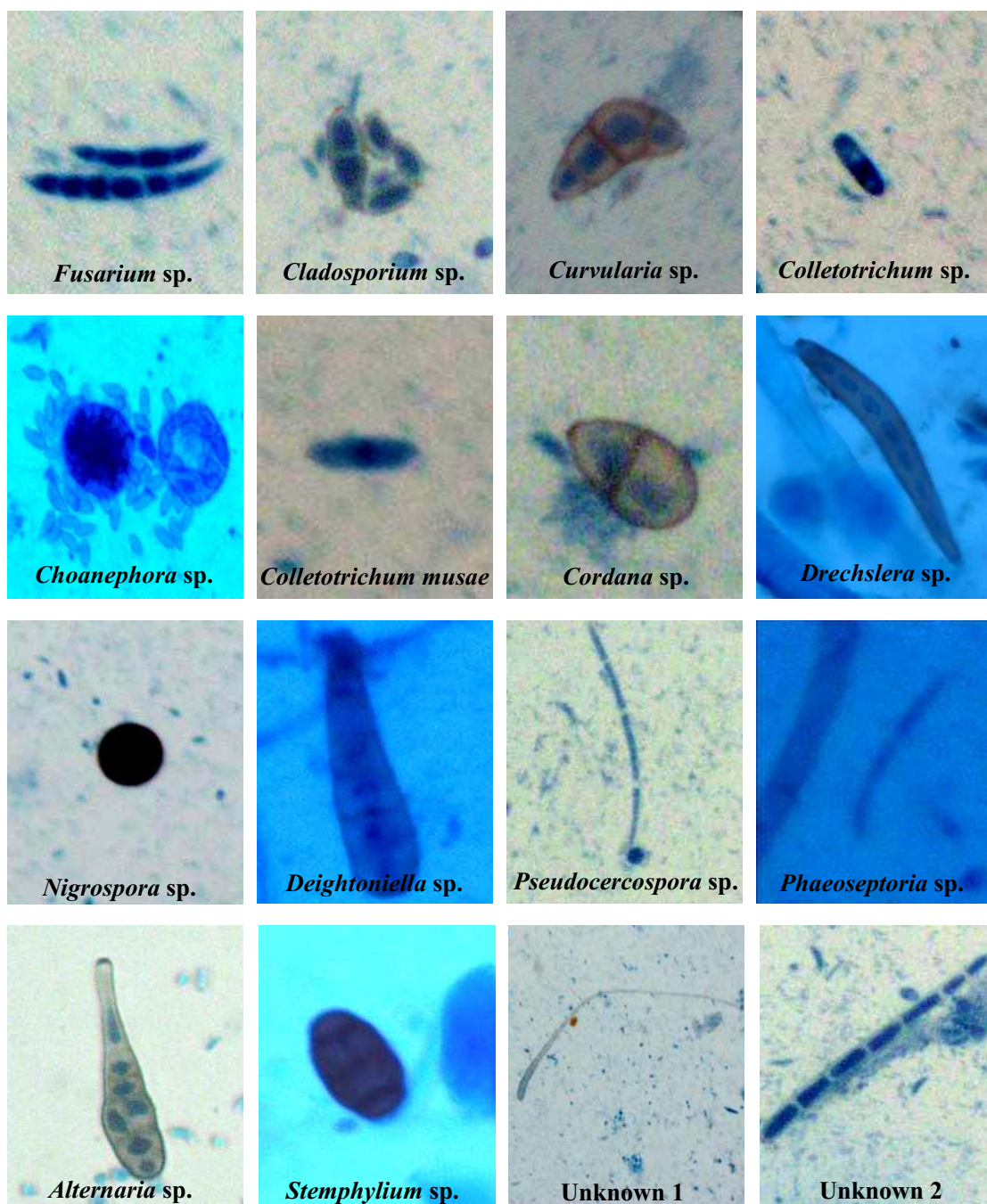
ภาพที่ 5 ลักษณะถุง moist chamber หลังจากการปลูกเชื้อราบนใบกล้วย

สำหรับผลกล้วยไข่ให้นำผลกล้วยที่ปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้ววางในกล่องพลาสติกใสที่ล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 % จากนั้นคลุมกล่องพลาสติกด้วยถุงพลาสติกแล้วเติมน้ำสะอาดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงไปในถุง มัดปากถุงให้แน่น ตรวจสอบผลหลังจากปลูกเชื้อราบนใบนาน 15 วัน ส่วนผลกล้วยไข่ให้ตรวจสอบผลหลังจากปลูกเชื้อนาน 7 วัน

ผลการวิจัย

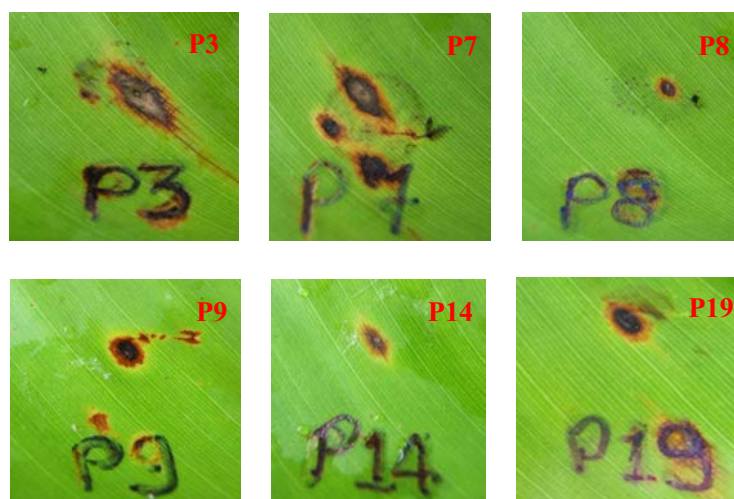
1. ตรวจสอบสกุลและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับผิวผลกล้วยไข่

ผลการตรวจสอบพบว่าเชื้อราจำนวน 16 สกุล ที่ติดอยู่บนผิวกล้วยไข่ ในพื้นที่ อ.เด่นชัย จ.แพร่ ได้แก่ *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Cordana* sp., *Curvularia* sp., *Deightonella* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Pseudocercospora* sp., Unknown1, Unknown2, *Choanephora* sp., *Stemphylium* sp. *Colletotrichum musae* และ *Phaeoseptoria* sp. ส่วนผลการตรวจสอบในพื้นที่ อ.เมือง จ.นครสวรรค์พบราจำนวน 15 สกุล ได้แก่ *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Colletotrichum musae*, *Cordana* sp., *Curvularia* sp., *Deightonella* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Pseudocercospora* sp., Unknown1, Unknown2, *Choanephora* sp., *Stemphylium* sp. จากการศึกษาพบว่าเชื้อราสกุล *Fusarium* spp. เติบโตแล้วมีปริมาณมากถึง 10^4 รองลงมาคือสกุล Unknown 3, *Cladosporium* sp. และ *Curvularia* sp. ตามลำดับ ตัวอย่างเชื้อราที่พบแสดงในภาพที่ 6

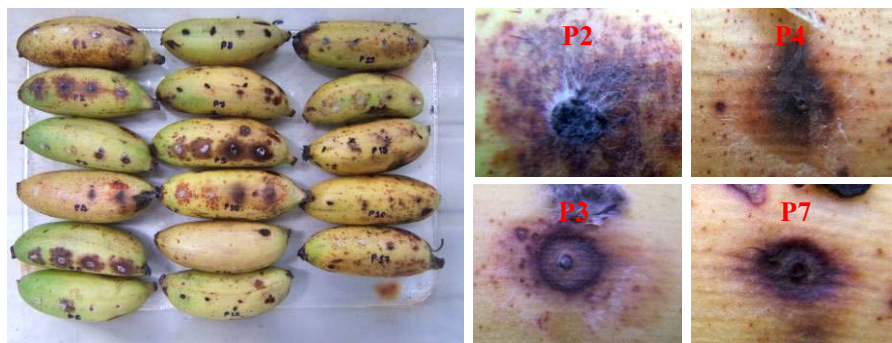


ภาพที่ 6 ลักษณะสปอร์เชื้อราที่ตรวจพบจากกรวยดักสปอร์

ในตัวอย่างน้ำที่เก็บมาจาก จ.แพร่ สามารถแยกเชื้อราจากตัวอย่างน้ำได้ 19 ไอโซเลท สามารถจำแนกได้เป็น 13 สกุล ดังนี้ *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. และเชื้อราชั้นสูงที่ไม่สามารถจำแนกสกุลอีก 8 สกุล ผลการปลูกเชื้อราบนใบกล้วยพบว่า *Curvularia* sp., และราชั้นสูง 6 สกุล สามารถทำให้ใบกล้วยแสดงอาการจุดได้ ตัวอย่างแสดงในภาพที่ 7 ส่วนผลการปลูกเชื้อบนผลกล้วยพบว่าเชื้อรา *Fusarium* spp., *Curvularia* spp. และราชั้นสูงอีก 2 สกุล ทำให้ผลกล้วยแสดงอาการจุดและเน่าได้ ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 7 ลักษณะใบกล้วยใบที่แสดงอาการจุดหลังจากปลูกเชื้อรา นาน 15 วัน



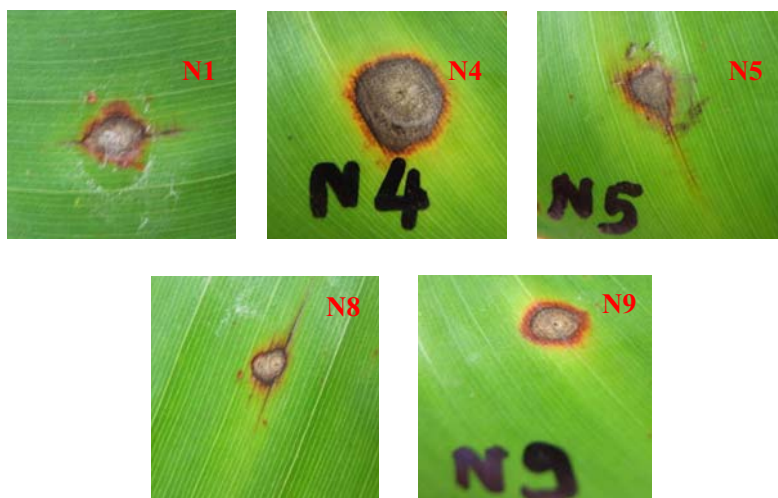
ภาพที่ 8 ลักษณะผลกล้วยไข่ที่แสดงอาการเน่าหลังจากปลูกเชื้อรา นาน 7 วัน

P2 = *Fusarium* sp. P3 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด P4 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด

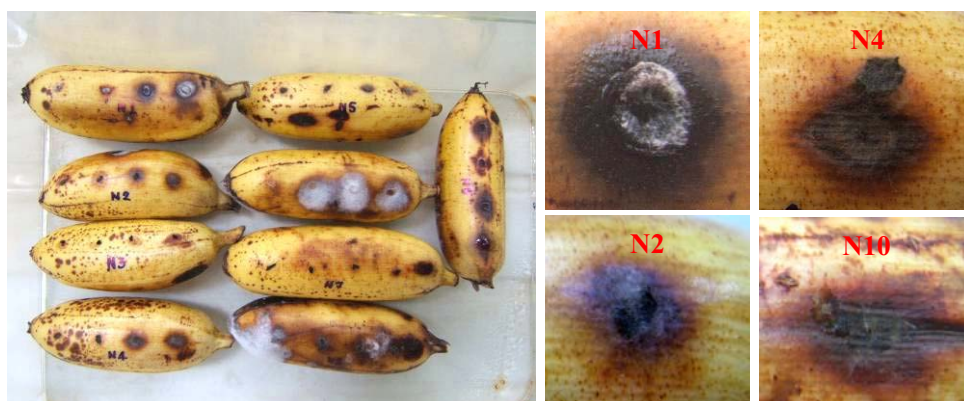
P7 = *Curvularia* sp.

สำหรับตัวอย่างน้ำที่เก็บจาก จ.นครสวรรค์ สามารถแยกเชื้อราได้ 10 ไอโซเลท สามารถจำแนกได้เป็น 7 สกุล คือ *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และเชื้อราชั้นสูงที่ไม่สามารถจำแนกสกุลอีก 5 สกุล หลังจากปลูกเชื้อที่ใบพบว่าเชื้อรา 5 สกุล ทำให้ใบกล้วยแสดงอาการจุด ตัวอย่างแสดงในภาพที่ 9 ส่วนเชื้อรา *Fusarium* spp. และเชื้อราชั้นสูงที่ไม่สามารถจำแนกสกุลอีก 4 สกุล ทำให้ผลกล้วยไข่แสดงอาการจุดและเน่าได้ ตัวอย่างแสดงในภาพที่ 10





ภาพที่ 9 ลักษณะใบกล้วยใบที่แสดงอาการจุดหลังจากปลูกเชื้อรา นาน 15 วัน



ภาพที่ 10 ลักษณะผลกล้วยใบที่แสดงอาการเน่าหลังจากปลูกเชื้อรา นาน 7 วัน

N1 = *Fusarium* sp. N2 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด N4 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด

N10 = ราชั้นสูงไม่ทราบชนิด

สรุปและวิจารณ์ผล

โดยรวมแล้วเชื้อราที่ติดอยู่บนผลกล้วยไข่ตั้งแต่เริ่มออกปลีจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิตในแปลงกล้วยไข่ของเกษตรกรที่ตรวจสอบและจำแนกสกุลแล้วมีจำนวน 14 สกุล คือ *Alternaria* sp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Cordana* sp., *Curvularia* spp., *Deightoniella* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Pseudocercospora* sp., *Choanephora* sp., *Stemphylium* sp. *Colletotrichum musae* และ *Phaeoseptoria* sp. ผลการนับจำนวนสปอร์พบว่า *Fusarium* spp. มีปริมาณมากที่สุด นอกจากนี้ *Fusarium* spp. ที่แยกได้ทุกชนิดสามารถทำให้ผลกล้วยแสดงอาการเน่าและเกิดจุดสีแดง ขนาดเท่าปลายเข็มได้ การตรวจสอบเชื้อราที่ติดอยู่บนผลกล้วยไข่ใน จ.แพร่ พบว่ามีจำนวนสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. มากกว่าแปลงตรวจสอบ จ.นครสวรรค์ นั้นแสดงให้เห็นว่าผลกล้วยหลังการเก็บเกี่ยวใน จ.แพร่ มีโอกาสเกิดอาการผลเน่าที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. มากกว่า จ.นครสวรรค์

เอกสารอ้างอิง

Bellaire, L. de Lapeyre de and X., Mourichon. 1997. The pattern of fungal contamination of the banana bunch during its development and potential influence on incidence of crown-rot and anthracnose diseases. *Plant Pathology* 46: 481-489.

3.4 อาการผลจูด (ลูกลาย) บนผลกล้วยไข่

คำนำ

อาการผลจูดบนผลกล้วยไข่ หรือที่ชาวสวนเรียกว่าอาการ “ลูกลาย” พบตั้งแต่ระยะผลอ่อน หลังตัดปลีแล้วไปจนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งทำให้ผิวผลมีตำหนิ มีแผลเป็นสะเก็ดบน สีน้ำตาลเข้ม ทำให้เป็นปัญหาสำคัญของการปลูกกล้วยไข่เพื่อส่งออก ถ้าหากผิวผลมีตำหนิดังกล่าวจะต้องถูกคัดออกไม่สามารถคัดลงกล่องเพื่อส่งออกได้ สาเหตุของอาการผลจูด ได้มีรายงานว่า เกิดจากเชื้อราหลายชนิด และจะเกิดการระบาดในช่วงฝนตกชุก ได้มีการแนะนำให้ห่อเครือกล้วยด้วยถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน เพื่อรักษาคุณภาพผิวและป้องกันการทำลายของแมลง และก่อนห่อเครือกล้วยได้แนะนำให้พ่นสารกำจัดโรคพืชด้วย คาร์เบนดาซิม 50% WP อัตรา 30-40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (กรมวิชาการเกษตร-เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไข่, 2545)

อย่างไรก็ตามอาการผลจูดลาย บนผลกล้วยไข่ยังคงเป็นปัญหาซึ่งอาจจะไม่ใช่สาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว อาจเกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟ (Hawaiian flower thrips: *Thrips hawaiiensis*) โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นจะพบการทำลายของเพลี้ยไฟชนิดนี้มาก ที่สำคัญเพลี้ยไฟชนิดนี้ชอบสภาพพื้นที่ที่เปียกชื้นและมีร่มเงา ซึ่งแตกต่างกับเพลี้ยไฟชนิดอื่น (Crop Knowledge Master, 1993) อาการจูดบนผลกล้วยพบในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกและยังไม่สามารถหาทางแก้ไขได้ ดังนั้นงานทดลองครั้งนี้จึงจะได้ทำการฉีดพ่นสารเคมีเพื่อควบคุมเชื้อโรคและแมลงในช่วงตั้งแต่เริ่มแทงปลีกล้วย และหยุดพ่นก่อนการเก็บเกี่ยวในระยะเวลาที่กำหนด ซึ่งคาดว่าจะสามารถลดความเสียหายจากอาการผลจูดลายได้

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบสาเหตุอาการผลจูดบนผล และได้วิธีป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ

วิธีการวิจัย

1. นำผลกล้วยที่มีอาการจูดบนผลมาทำการแยกเชื้อ เพื่อพิสูจน์สาเหตุโรค โดยตัดบริเวณแผลให้มีขนาด 3x3 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นย้ายชิ้นพืชดังกล่าวแช่ใน 10% clorox เป็นเวลา 3-5 นาที ซับด้วยกระดาษกรองที่ทำการฆ่าเชื้อแล้วให้แห้ง เลี้ยงบนอาหาร PDA
2. ทดสอบชนิดของสารเคมีที่เหมาะสมในการป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟและเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้สารเคมีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ไดฟโนโคนาโซล คาร์เบนดาซิม คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ ฟิวเพ็ก แมนโคเซบ อิมิดาคลอพริค ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 1 ชนิด คือเชื้อรา *Beauveria* และวิธีการคลุมถุง โดยทำการทดสอบในพื้นที่ปลูกกล้วยไข่ 2 พันธุ์ คือ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 และพันธุ์พื้นเมือง ของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ วิธีการทดสอบจะแบ่งออกเป็น 14 กรรมวิธี รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Student “t” test ที่อธิบายโดย Steel and Torrie (1960) กำหนดระยะเวลาในการฉีดพ่นทุกๆ 2 สัปดาห์ ตั้งแต่ต้นกล้วยเริ่มแทงปลี ตั้งแต่เดือนสิงหาคม-กันยายน 2550 จนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยว แต่

ละกรรมวิธีฉีดพ่นสารเคมี 5 ต้น จนทั่ว ทำการฉีดพ่นทั้งหมด 3 ครั้ง บันทึกวันที่เก็บเกี่ยว น้ำหนักกล้วยทั้งเครือ จำนวนหวีต่อเครือ น้ำหนักหวีที่ 2 ระดับความสวยของผิวผลกล้วย จุดเนื้ที่เกิดขึ้นบนผลโดยประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล และอาการผิดปกติที่พบหลังจากทิ้งกล้วยไข่ให้สุกงอมในสภาพอุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 1 กรรมวิธีที่ใช้ในการควบคุมอาการผลจุด

กรรมวิธี	ปริมาณสารผสมใน น้ำ 5 ลิตร	เติมสารเปียกใบ
S1 ไดฟิโนโคนาโซล	2.5 มล.	2 มล.
S2 คาร์เบนดาซิม	5 มล.	2 มล.
S3 คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์	12.5 กรัม	2 มล.
S4 แมนโคเซบ	12.5 กรัม	2 มล.
S5 ไดฟิโนโคนาโซล+ ฟิวเป็ก	2.5 มล.+10 มล.	2 มล.
S6 คาร์เบนดาซิม+ ฟิวเป็ก	5 มล.+10 มล.	2 มล.
S7 คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์+ ฟิวเป็ก	12.5 กรัม+10 มล.	2 มล.
S8 ฟิวเป็ก	10 มล.	2 มล.
S9 อิมิดาคลอพริด	0.125 กรัม	2 มล.
S10 เชื้อรา Beauveria	20 กรัม	-
S11 นมสด	-	-
S12 คลุมถุงจนถึงเก็บเกี่ยว	-	-
S13 ชุคควบคุม (พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2)	-	-
S14 พันธุ์พื้นเมือง	-	-

*หมายเหตุ S1-S13 กล้วยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 (KU2) S14 พันธุ์พื้นเมือง (สุโขทัย)

ผลการทดลอง

1. จากการแยกเชื้อสาเหตุจากการผลจุนูนกล้วยไข่ ซึ่งมีแผลลักษณะเป็นสะเก็ดนูนสีน้ำตาลเข้ม ขนาดเล็กบนผล (ภาพที่ 1) ไม่พบเชื้อราสาเหตุ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการผลจุนูนดังกล่าว ไม่ได้มีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการผลจุนูนบนผลกล้วยไข่

2. เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตกล้วยในแต่ละกรรมวิธีที่ทดลอง เมื่อวันที่ 3 ตุลาคม 22 ตุลาคม และ 10 พฤศจิกายน 2550 มาประเมินระดับความเสียหายของผลผลิตที่มีอาการจุนูน พบว่าอาการจุนูนบนผลในทุกกรรมวิธีที่ทดลองมีน้อยมากไม่สามารถประเมินได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในช่วงที่ทำการทดลองขณะนั้นไม่มีการระบาดของเพลี้ยไฟเลย จึงไม่พบอาการจุนูนบนผลดังกล่าว (ภาพที่ 2)

เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตของกล้วยไข่ ในแต่ละกรรมวิธีที่ทดลอง พบว่า การใช้สารฆ่าแมลงควบคุมเพลี้ยไฟ ีพ่วงกับอิมิดาโคลพริด ให้ผลผลิตที่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม (control) (ตารางที่ 2)

จากการที่ได้ข้อมูลเบื้องต้นว่าสาเหตุของอาการผลจุนูนเกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟจึงได้ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ในช่วงเดือน พฤษภาคม 2551 เป็นช่วงที่พบการระบาดของเพลี้ยไฟมาก โดยได้แบ่งพื้นที่ทดลอง แยกห่างจากกันเป็น 2 แปลง ทั้งนี้เพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของละอองสารเคมีที่พ่น คือ ในแปลงที่ 1 พ่น อิมิดาโคลพริด อัตราแนะนำ จำนวน 15 ต้น พ่น 3 ครั้ง เมื่อต้นกล้วยเริ่มแทงปลี หลังแทงปลีแล้ว 7 วัน และ 17 วัน ตามลำดับ และแปลงที่ 2 เลือกไว้ 15 ต้นสำหรับเปรียบเทียบ เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวเก็บผลผลิตในเดือนกรกฎาคม นำมาเปรียบเทียบ สีผิวผล ลักษณะจุนูนบนผิวผล พบว่า ต้นที่พ่นสารกำจัดแมลงอิมิดาโคลพริดไม่มีอาการผิวผลเสียหายที่แปลงที่ไม่ได้พ่น พบอาการผิวผล 100% (ภาพที่ 4)



(S1) ไดฟิโนโคลนาโซล



(S2) คาร์เบนดาซิม



(S3) คอปเปอร์ออกไซด์ไฮดรอกไซด์



(S4) แมนโคเซบ



(S5) ไดฟิโนโคลนาโซล+ฟิวเพ็ก



(S6) คาร์เบนดาซิม+ฟิวเพ็ก



(S7) คอปเปอร์ออกไซด์ไฮดรอกไซด์+ฟิวเพ็ก



(S8) ฟิวเพ็ก



(S9) อิมิตาคลอพริด



(S10) เชื้อรา Beauveria



(S11) นมสด



(S10) กลุ่มถุงจนถึงเก็บเกี่ยว



(S13) ชุดควบคุม (พันธุ์เกษตรศาสตร์2)



(S14) พันธุ์พื้นเมือง

ภาพที่ 2 เปรียบเทียบผิวผลกล้วยไข่ แต่ละกรรมวิธีทดลอง ณ วันที่เก็บเกี่ยว

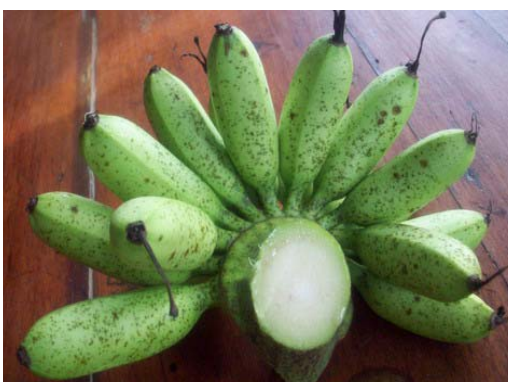
									
ไดฟีโนโดนนาโซล	(S1)	ไดฟีโนโดนนาโซล+ฟิวแม็ก	(S5)	คาร์บอนดาซิม+ฟิวแม็ก	(S6)	ห่อผล	(S12)	ชุดทดลอง	
						หูดควบคุม	(S13)	พันธุ์พื้นเมือง	(S14)
								เชื้อรา Beauveria	(S10)
								คาร์บอนดาซิม	(S2)
								นมสด	(S11)

ภาพที่ 3 เปรียบเทียบผิวผลกล้วยไข่แต่ละกรรมวิธีทดลอง ณ วันที่เก็บเกี่ยว

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเชื้อ จำนวนหัว จำนวนผล/เครือ น้ำหนักหัวที่ 2 ของกล้วยไข่ปลูกทดลองที่แปลงปลูกเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์

กรรมวิธี	น้ำหนักเครือ	จำนวนหัว	น้ำหนักหัวที่ 2
S1 ใต้ฟิโนโคนาโซล	9.25abc	6.75bcd	1.70ab
S2 คาร์เบนดาซิม	8.66bcde	7.40ab	1.44bc
S3 คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์	6.78f	6.00d	1.22cd
S4 แมนโคเซบ	8.95abcde	7.00abcd	1.65ab
S5 ใต้ฟิโนโคนาโซล+ ฟิวเน็ก	9.88abc	6.75bcd	1.70ab
S6 คาร์เบนดาซิม+ ฟิวเน็ก	10.38a	7.00abc	1.90a
S7 คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์+ ฟิวเน็ก	8.27cdef	7.33abc	1.47bc
S8 ฟิวเน็ก	9.58abc	7.80a	1.58b
S9 อิมิดาคลอพริด	9.20abcd	7.00abcd	1.55bc
S10 เชื้อรา Beauverin	8.58bcde	7.00abc	1.46bc
S11 นมสด	10.12ab	7.20abc	1.68ab
S12 กลุ่มจุลินทรีย์เก็บเกี่ยว	10.00abc	6.60bcd	1.70ab
S13 ชุดควบคุม (พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2)	6.92ef	6.40cd	1.16d
S14 ชุดควบคุม (พันธุ์พื้นเมือง)	7.14def	6.40cd	1.30cd
LSD(p=0.05) ^a	-	-	-

^a = ไม่ได้แสดงค่า LSD เนื่องจากจำนวนซ้ำของแต่ละกรรมวิธี ไม่เท่ากัน



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบผลกล้วยที่พ่นด้วยสารกำจัดเพลี้ยไฟอิมิดาคลอพริด 3 ครั้ง (ซ้าย) และผลกล้วยที่ไม่ได้พ่นสารกำจัดเพลี้ยไฟ แสดงอาการผลลายทุกหวี (ขวา)

3. เมื่อกกล้วยสุกและทิ้งไว้เป็นระยะเวลาประมาณ 1-2 วัน (เปอร์เซ็นต์ความแก่ 90%) กกล้วยไข่จะแสดงอาการตกกระ โดยจะเริ่มเป็นจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล ขนาด 0.2 – 0.5 มิลลิเมตร และจะขยายขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อกกล้วยไข่สุกมากขึ้น จุดกระนี้จะขยายขนาดเพิ่มต่อกันเป็นแผลสีดำขนาดใหญ่ทั่วทั้งผล (ภาพที่ 5) ซึ่งคล้ายกับเกิดโรค anthracnose แต่การตกกระของกล้วยไข่จะเป็นเฉพาะที่เปลือกเท่านั้น จะไม่ลงลึกไปถึงเนื้อของกล้วยไข่ และไม่ทำให้รสชาติเปลี่ยนแปลงไป (อรรพรรณ, 2545) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของจิตรราและสายชล (2541) ที่พบว่า การเกิดตกกระของกล้วยไข่มีความสัมพันธ์กับ สารประกอบฟีนอล เอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) และ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการเกิดสีน้ำตาลในผัก ผลไม้ เมื่อกระทบกระเทือนหรือเกิด บาดแผลขึ้น เมื่อทิ้งไว้สัปดาห์หนึ่งของผักผลไม้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งจะเปลี่ยนโมเลกุลของฟีนอลไปเป็น Quinone แล้วรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymerization) ขึ้น และมีสีน้ำตาล



ภาพที่ 5 อาการตกกระของกล้วยไข่หลังเก็บเกี่ยว

สรุปผลการทดลอง

อาการผลจุกดุนบนผลกล้วยไข่ ได้พิสูจน์แล้วว่าสาเหตุไม่ใช่เกิดจากโรค แต่เกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟตั้งแต่ระยะแทงปลี การทดลองใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา และสารเคมีกำจัดแมลง และการห่อผลรวมทั้งหมด 14 กรรมวิธี พบว่าอาการผลจุกดุน แต่ละกรรมวิธีมีน้อยมาก ซึ่งในช่วงการทดลองขณะนั้นเป็นช่วงที่ไม่มีมีการระบาดของเพลี้ยไฟ จึงได้ทดลองซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ในช่วงที่มีเพลี้ยไฟระบาดในเดือนพฤษภาคม พบว่า ต้นที่พ่นสารเคมีกำจัดเพลี้ยไฟไม่ปรากฏอาการ แต่ต้นที่ไม่ได้พ่นสารเคมีกำจัดเพลี้ยไฟแสดงอาการผลลายทุกเครือ (100%) ส่วนอาการตกรกระ ซึ่งเป็นอาการผลลายทางสรีระไม่ใช่สาเหตุจากโรคและแมลง

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไข่. 17 หน้า
- จิตรรา ตระกูลนำเลื่อมใส และ สายชล เกตุษา. 2541. ผลของอุณหภูมิต่อการตกรกระของผล กล้วยไข่. สารแม่ผล. 3(6) : 5-6.
- อรรวรรณ วงษ์วานิช. 2545. การควบคุมการตกรกระของกล้วยไข่. เกษตรการเกษตร. 26(11) : 178-183.
- Crop Knowledge Master. 1993. *Thrips hawaiiensis* (Morgan). (online). Available: http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/t_hawai.htm (30 September 2007).
- Steel, G. R. and Torrie J. H. 1960. Principles and procedures of statistics. New York : Mc Graw Hill Book Company, Inc. 481 p.

3.5 การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์จากกล้วยไม้สำหรับควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไม้

คำนำ

ปัจจุบันกล้วยไม้เป็นพืชไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งเกษตรกรกำลังนิยมปลูกกันแพร่หลายเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณการส่งออกไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศได้มีการขยายตัวเพิ่มขึ้น แต่ในการปลูกกล้วยไม้ก็ย่อมมีอุปสรรคเกิดขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีโรคหลายชนิดเกิดแพร่ระบาดเข้าทำลายก่อความเสียหายต่อกล้วยไม้ตามแหล่งปลูกทั่วประเทศอันเป็นผลทำให้ผลผลิตลดลง โรคแอนแทรคโนสเป็นอีกโรคหนึ่งที่สำคัญ ทำความเสียหายต่อกล้วยไม้เป็นอย่างมาก ซึ่งโรคนี้สามารถเกิดได้ทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว และแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในระหว่างการขนส่งถ้ามีการปฏิบัติไม่ถูกต้อง ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคกล้วยไม้ย่อมมีความจำเป็นและสำคัญยิ่งเพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้เชื้อโรคเกิดการระบาดซึ่งอาจจะทำลายก่อความเสียหายขึ้น การป้องกันกำจัดโดยทั่วไปใช้สารเคมี เช่น carbendazim, mancozeb, copper oxychloride เป็นต้น แต่การใช้สารเคมีมักเกิดปัญหาต่างๆ เช่น ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เกิดสารพิษตกค้างในดิน น้ำ ในผลผลิตและยังทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ การควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมแพร่หลาย ซึ่งเป็นการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทำการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคทำให้พืชลดการเกิดโรคได้ จึงมีการค้นหาจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ รวมทั้งจากเนื้อเยื่อพืชปกติ เพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่น เชื้อราเอนโดไฟท์ โดยเชื้อราเหล่านี้อาศัยอยู่ในพืชในส่วนของท่อลำเลียง ไม่ทำให้พืชอาศัยแสดงอาการผิดปกติ โดยมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากับพืชอาศัยนั้นๆ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอาศัย ช่วยให้พืชมีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ช่วยลดปริมาณความเสียหายจากศัตรูพืช (Carroll, 1990) ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นพืช และยังสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืชได้อย่างดี (Belanger, 1996)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะอาการ โรคแอนแทรคโนสของกล้วยไม้ ศึกษาเชื้อสาเหตุ และคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรค

วิธีการวิจัย

การแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบกล้วยไม้ เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไม้

นำใบกล้วยไม้พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 ที่มีลักษณะใบปกติแข็งแรงและสมบูรณ์ จากแปลงทดลอง 2 แปลง ในจังหวัดนครสวรรค์ โดยเก็บแปลงละ 10 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากภายในเนื้อเยื่อส่วนใบและก้านมาทำการตัดให้มีขนาดประมาณ 2x2 เซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อที่ผิว

ด้วยการจุ่มชิ้นพืชลงใน 70% ethanol และ Clorox 10% นาน 3-5 นาที จากนั้นล้างชิ้นพืชด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษกรองที่ทำการฆ่าเชื้อแล้วให้แห้ง ทำการตัดชิ้นพืชให้มีขนาด 3x3 มิลลิเมตร เลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อเจริญออกจากชิ้นพืช ทำการ cork บริเวณปลายเส้นใยมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ใหม่ เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เก็บเป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การทดสอบเบื้องต้นในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เอนโดไฟท์ที่แยกได้จากชิ้นพืช

ทดสอบเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เอนโดไฟท์ ในการทำให้เกิดโรคโดยเลือกผลกล้วยดิบที่ไม่เป็นโรค และไม่มีรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรู ทำการฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ด้วยวิธีวางชิ้นเชื้อ (culture disc) ลงบนผลกล้วยดิบ โดยวาง 3 ตำแหน่งต่อผล ทำกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการเกิดโรค

การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไข่

ทดสอบเชื้อราสาเหตุโรคทางใบและเชื้อราเอนโดไฟท์ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใย นำ culture disc ของเชื้อราสาเหตุและเชื้อราเอนโดไฟท์ วางลงบนอาหาร PDA โดยให้ห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร และวางเชื้อราเอนโดไฟท์ ตรงข้ามกัน ห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) เช่นกัน โดยทำกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้อง คุปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตามวิธีการของเกษม (2532) ดังนี้

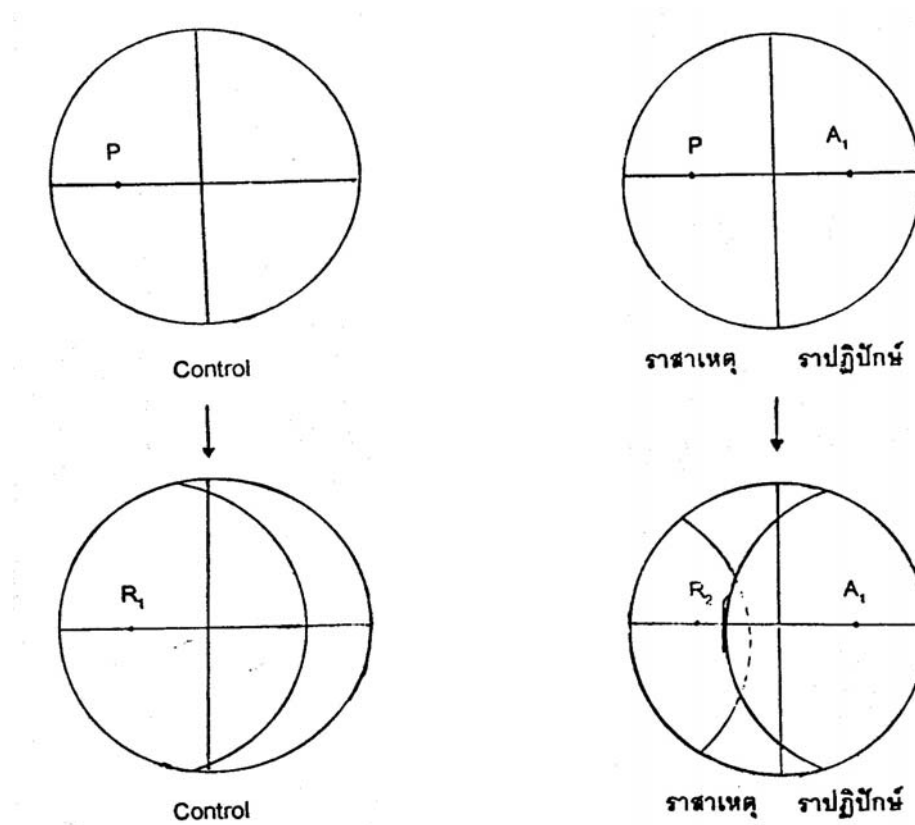
$$\% \text{ inhibition} = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100$$

โดย R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส แล้วประเมินความสามารถในการยับยั้งตามวิธีการของ เกษม (2532)

- | | |
|--------|------------------------------------|
| > 75% | = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก |
| 61-70% | = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง |
| 51-60% | = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง |
| < 50% | = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ |



ภาพที่ 1 ลักษณะการเลี้ยงเชื้อโดยวิธี Dual Culture Technique หรือ Biculture Technique

P = เชื้อราสาเหตุ

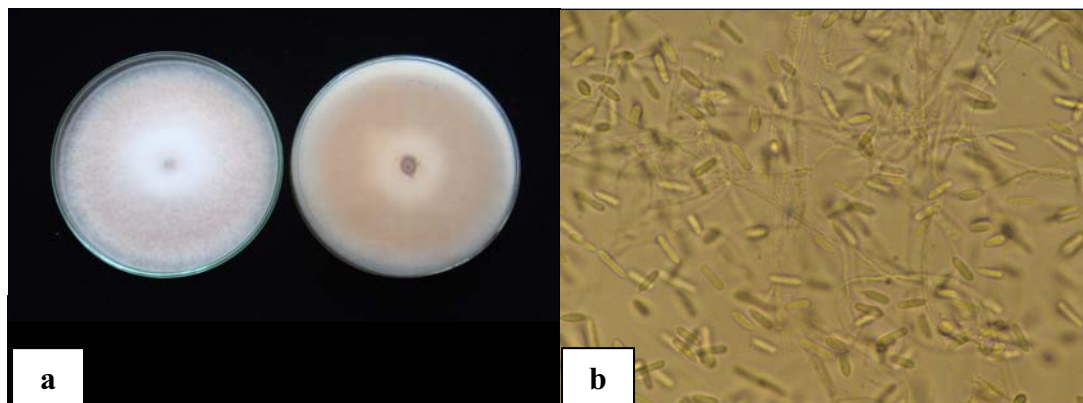
A = เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (รา/แบคทีเรีย)

R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

ผลการวิจัย

รูปร่างลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรค

หลังจากนำเชื้อรา *Colletotrichum musae* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน เชื้อราจึงเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร พบว่าเส้นใยมีสีขาวอมส้ม และสร้างกลุ่มสปอร์ (spores mass) สีส้มหลังการปลูกที่อายุ 10 วัน ได้จานอาหารเป็นสีส้มเมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ conidia เซลล์เดี่ยว ไม่มีสี เส้นใยมีผนังกัน แต่กึ่งก้านจำนวนมาก (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum musae* บนอาหาร PDA เส้นใยมีสีขาวอมส้ม (a)
ลักษณะเส้นใย และ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (b)

การตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราเอนโดไฟต์

หลังจากทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ด้วยวิธี Triple Surface Sterilization จากบริเวณใบและก้านกล้วยไข่พันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 ที่เก็บจากแปลงปลูกเกษตรกรอำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 2 แปลง แปลงละ 10 ตัวอย่าง ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (จานอาหารเลี้ยงเชื้อ) ซ้ำละ 4 จุดต่อจาน พบเชื้อราเอนโดไฟต์ที่เจริญจากชิ้นพืชทั้งสิ้น 216 ไอโซเลท โดยจำแนกได้ดังนี้ 1. แปลงปลูกเกษตรกรแปลงที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ทั้งสิ้นจำนวน 83 ไอโซเลท จากจำนวนชิ้นพืช 240 ชิ้น คำนวณอัตราการเกิดโคโลนีของรา (colonization rate) ได้ 38.43% 2. แปลงปลูกเกษตรกรแปลงที่ 2 อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ทั้งสิ้นจำนวน 133 ไอโซเลท คิดเป็น colonization rate ได้ 61.57% และเมื่อเปรียบเทียบส่วนของพืชที่นำมาแยกพบว่าสามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากบริเวณใบได้ทั้งสิ้นจำนวน 68 ไอโซเลท จากจำนวนชิ้นพืช 240 ชิ้น คำนวณเป็นอัตราการเกิดโคโลนีของรา (colonization rate) ได้ 31.48% และสามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากบริเวณก้านได้ทั้งสิ้น 148 ไอโซเลท จากจำนวนชิ้นพืช 240 ชิ้น คิดเป็น colonization rate ได้ 68.52%

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบ colonization rate ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เจริญออกจากใบและก้านกล้วยไข่

แหล่งปลูก	จำนวนเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เจริญ ออกมาจากชิ้นพืช (240 ชิ้น)	% colonization rate
1. แปลงปลูกเกษตรกรรมแปลงที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัด นครสวรรค์	83	38.43
2. แปลงปลูกเกษตรกรรมแปลงที่ 2 อำเภอเมือง จังหวัด นครสวรรค์	133	61.57

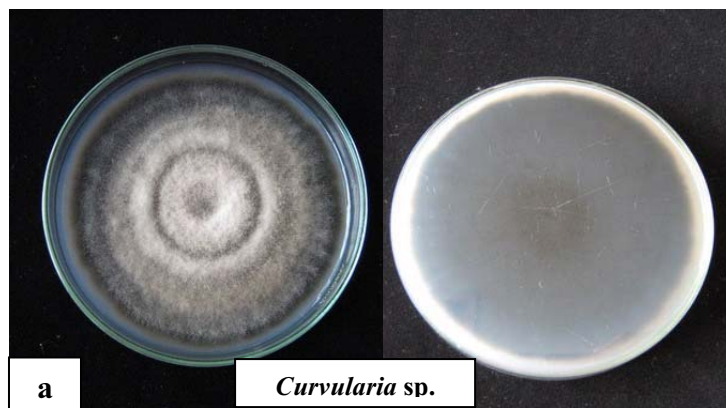
การตรวจสอบและบ่งชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์

จากการนำเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งสิ้น 216 ไอโซเลต มาทำการตรวจลักษณะทาง
สัณฐานวิทยา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนี ลักษณะรูปร่างและโครงสร้างต่างๆที่เชื้อ
ราสร้างขึ้น แล้วนำไปเทียบกับหนังสืออ้างอิง สามารถจำแนกเชื้อราได้ดังนี้ *Curvularia* spp. 69 ไอ
โซเลต, *Colletotrichum* spp. 20 ไอโซเลต, *Nigrospora* sp. 1 ไอโซเลต, *Alternaria* sp. 1 ไอโซเลต,
Penicillium sp. 6 ไอโซเลต, *Rhizopus* sp. 1 ไอโซเลต, *Phyllosticta* spp. 32 ไอโซเลต, *Drechslera*
sp. 7 ไอโซเลต, *Deightoneilla* spp. 4 ไอโซเลต, unknown1 1 ไอโซเลต, , unknown2 1 ไอ
โซเลต, unknown3 1 ไอโซเลต และ *Mycelia Sterilia* 72 ไอโซเลต

ลักษณะของเชื้อราเอนโดไฟท์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่า และลักษณะของเชื้อราเอน
โดไฟท์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อราชนิดต่างๆ ที่แยกได้มีลักษณะดังนี้

Curvularia spp. ลักษณะโคโลนีสีดำ สีเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย ได้จานอาหารโคโลนีสีดำ
conidiophore เป็นแบบธรรมดาหรือแตกกิ่งก้าน conidia สีเข้ม มี 3-5 เซลล์ รูปร่างโค้ง เซลล์ตรง
กลางมีขนาดโตกว่าและสีเข้มกว่าเซลล์บริเวณหัวท้าย



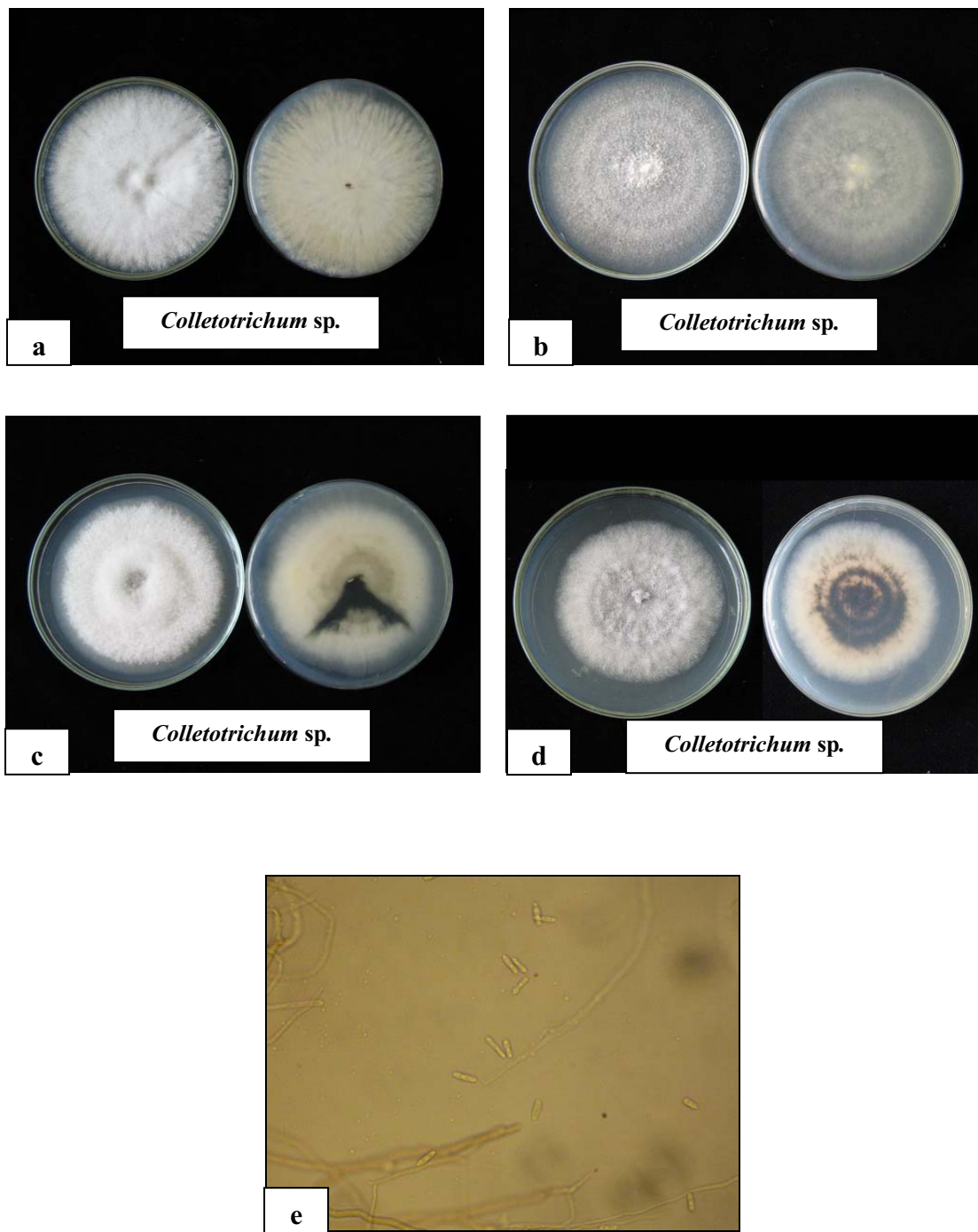
ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีและโครงสร้างของเชื้อรา *Curvularia* sp.

a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *Curvularia* sp.

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Colletotrichum spp. ลักษณะโคโลนีสีขาวถึงสีเทา สีเทาดำ และสีดำ เส้นใยสานพันกันแน่น ไม่ฟูหรือฟูเล็กน้อย เมื่อพลิกดูได้งานอาหารมีสีเหลือง สีเทา สีส้มตรงกลางสีดำเป็นชั้นๆ หลังปลูกเชื้อ 10 วัน เชื้อราสร้างกลุ่มสปอร์ (spores mass) สีส้ม conidiophore สั้น conidia ไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอก รูปไข่หรือยาวรี มีเซลล์เดียว

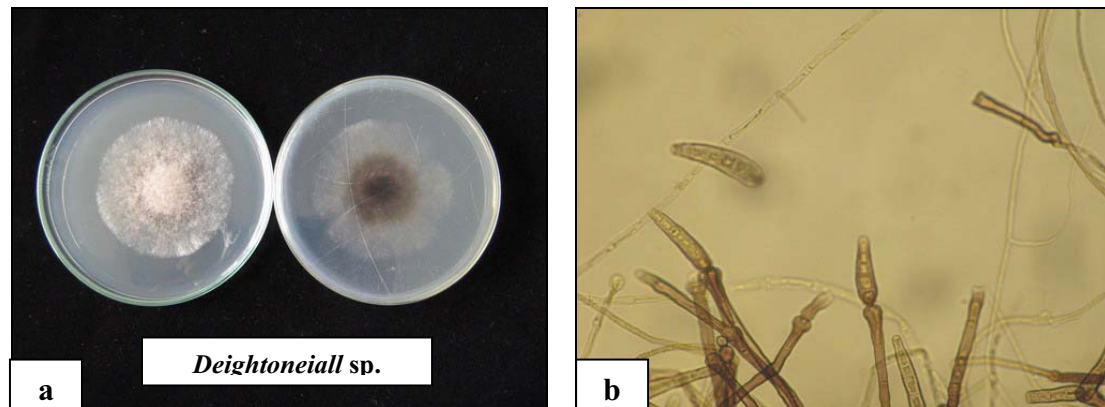


ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

a-d = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

e = ลักษณะเส้นใย และ conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Deightoneiall sp. ลักษณะโคโลนีสีดำ เส้นใยฟู เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) พบ conidia สีเข้ม มี 5-8 เซลล์ ส่วนหัวเล็กกว่าส่วนท้าย conidiophore ยาว ส่วนปลายโป่งออกเล็กน้อย เส้นใยสีเข้ม มีผนังกัน



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีและโครงสร้างของเชื้อรา *Deightoneilla* sp.

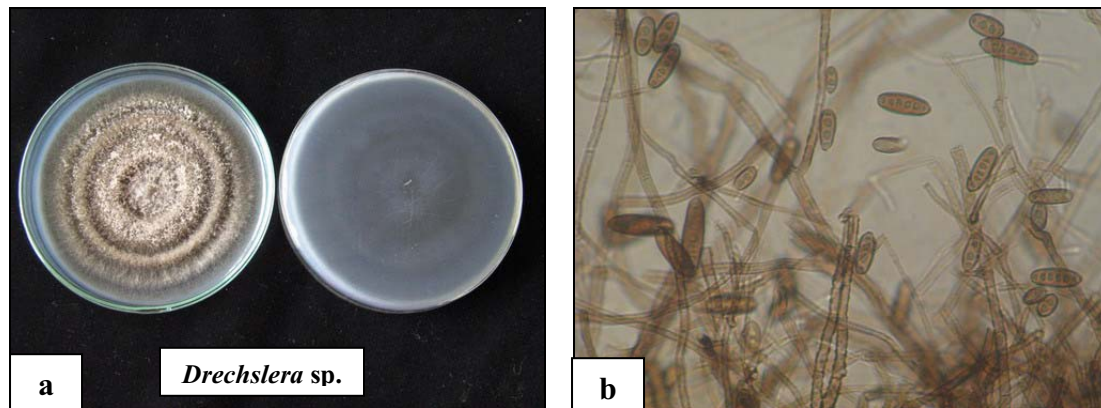
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Deightoneilla* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *Deightoneilla* sp.

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Drechslera spp. ลักษณะโคโลนีสีดำ เส้นใยฟู ได้จากอาหารโคโลนีสีดำ conidiophore มีรูปร่าง spindle-shaped สีน้ำตาลเข้ม conidia สีเข้ม หัวท้ายมน มี 3-6 เซลล์ เส้นใยสีเข้ม มีผนังกัน (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Drechslera* sp.

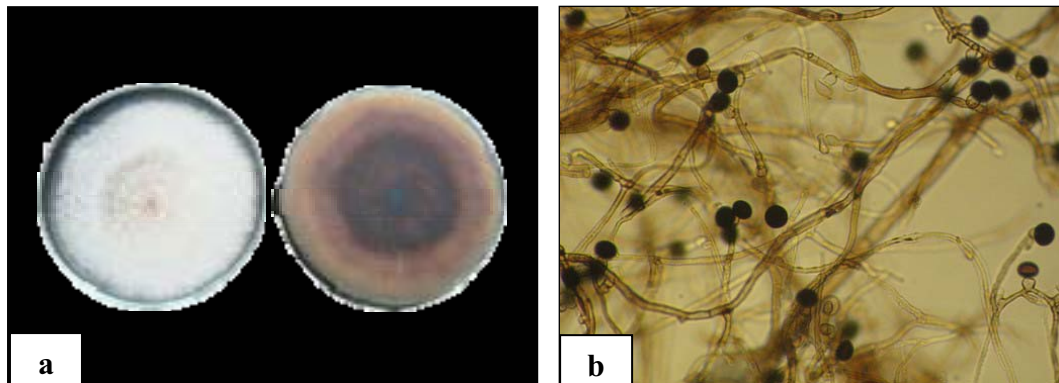
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Drechslera* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *Drechslera* sp.

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Nigrospora sp. ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA สีสน้ำตาลเทาเมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็น สีเทาดำ มีลักษณะฟู พลิกลูใต้จานอาหารเป็นสีดำ เส้นใยสีเข้มมีผนังกัน conidiophore สั้น conidia สีดำ รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม เกิดอยู่บนเซลล์ลักษณะคล้ายถุงใสซึ่งเกิดที่ส่วนปลายของ conidiophore (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Nigrospora* sp.

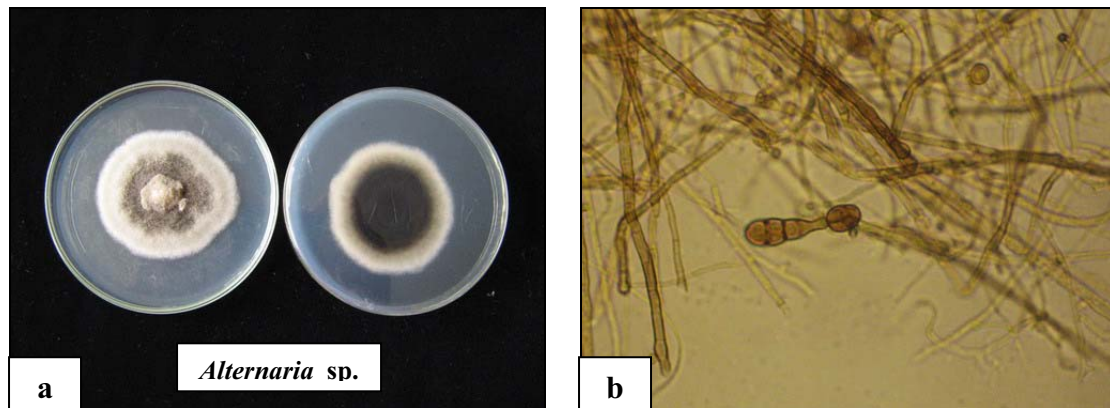
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Nigrospora* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *Nigrospora* sp.

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Alternaria sp. ลักษณะโคโลนีสีน้ำตาลดำ เรียงตัวเป็นชั้นๆ conidiophore สีเข้ม ไม่แตกกิ่ง ก้าน conidia สีเข้ม มีผนังกันทั้งตามขวางและตามยาว ด้านหนึ่งใหญ่ อีกด้านหนึ่งเล็กแบบกระบองกลับหัว (obclavate) หรือรูปไข่ (ovoid) conidia มักเกิดจากฐานไปสู่ยอด (acropetally) (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp.

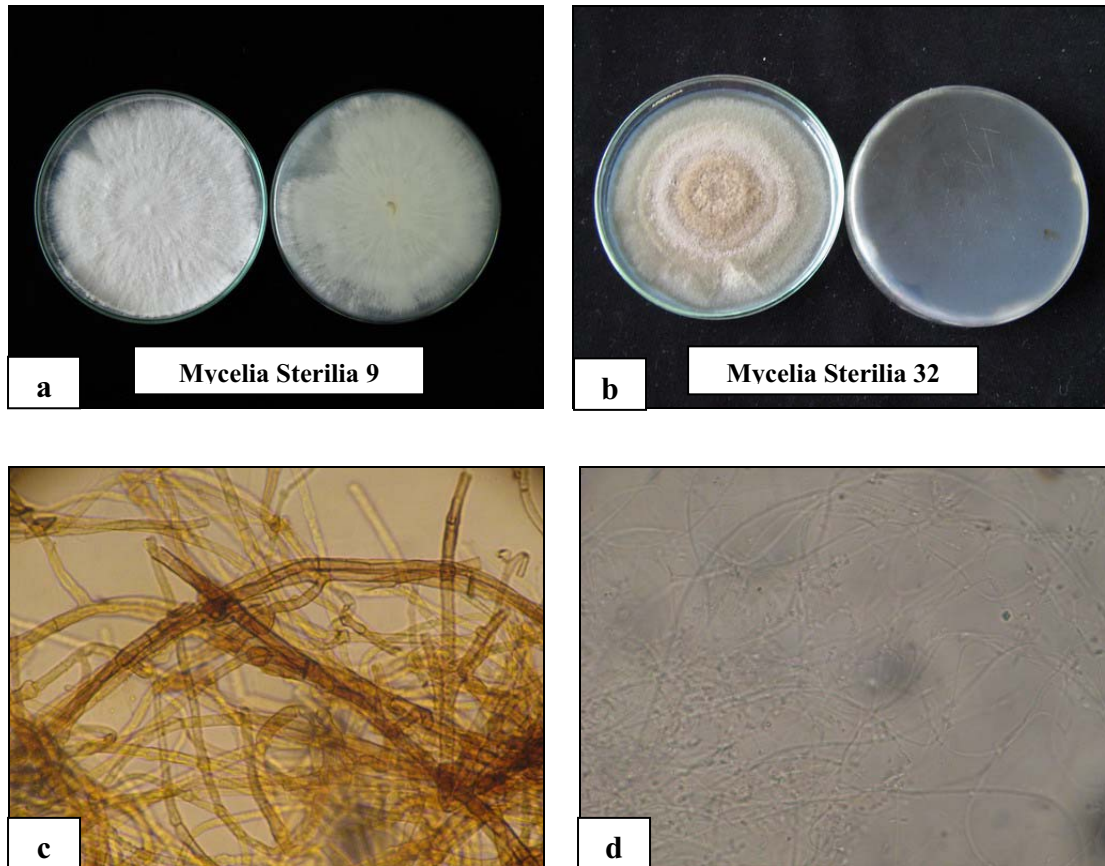
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *Alternaria* sp.

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Mycelia Sterilia โคลนนี้มีหลายสี เช่น สีขาว สีขาวครีม สีเทา และสีดำ ลักษณะการเจริญอาจเป็นได้หลายแบบ คือ เส้นใยเจริญดีมาก เจริญดีปานกลาง และเจริญน้อย สานพันกันทั้งแบบฟูและไม่ฟู ไม่พบโครงสร้างสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เป็นต้น (ภาพที่ 9)

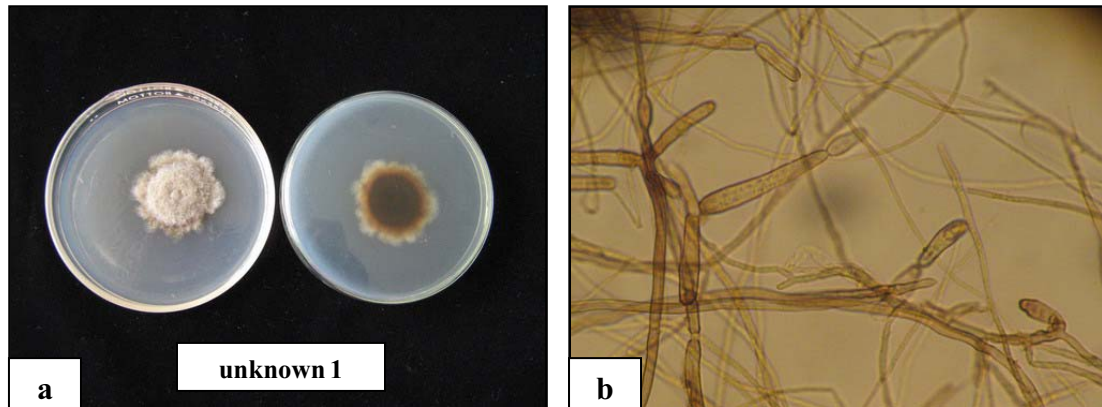


ภาพที่ 9 ลักษณะโคโลนีและโครงสร้างของเชื้อราในกลุ่มของ Mycelia Sterilia

a-b = ลักษณะโคโลนีของเชื้อราในกลุ่ม Mycelia Sterilia ไอโซเลต 9 (a) และ Mycelia Sterilia ไอโซเลตที่ 32 (b) ที่เจริญบนอาหาร PDA

c-d = ลักษณะเส้นใยของเชื้อราในกลุ่ม Mycelia Sterilia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เชื้อรา unknown 1 ลักษณะโคโลนีมีสีเทา ขอบไม่เรียบ เส้นใยฟู ด้านใต้จานอาหารสีน้ำตาลเข้ม เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ conidia สีเข้มต่อกันเป็นลูกโซ่ รูปร่างเรียวยาวมีหลายเซลล์ conidiophore สีเข้ม แตกกิ่งก้าน เส้นใยมีผนังกัน



ภาพที่ 10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา unknown 1

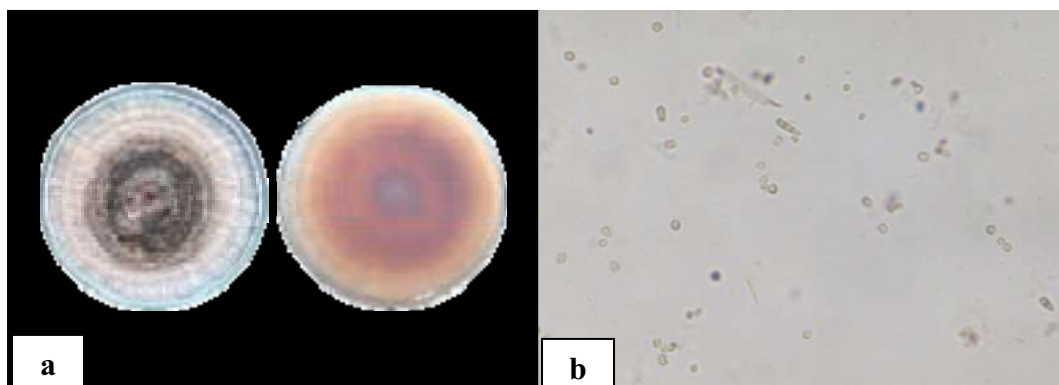
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา unknown 1 ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใย, conidia และ conidiophore ของเชื้อรา unknown 1

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เชื้อรา unknown 2 ลักษณะโคโลนีเทา บริเวณตรงกลางดำ เจริญออกเป็นชั้นๆ ด้านล่างจานอาหาร สีแดงอมส้ม เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidia มีสีใส รูปร่างไม่แน่นอน ขนาดเล็ก



ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา unknown 2

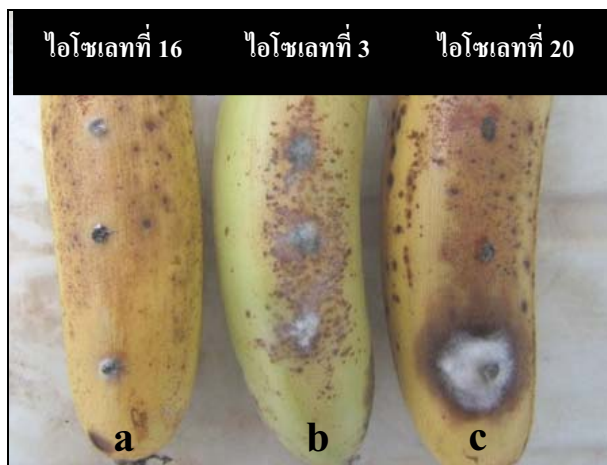
a = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา unknown 2 ที่เจริญบนอาหาร PDA

(ซ้าย = มองจากด้านบน, ขวา = มองจากด้านล่างของจานอาหาร)

b = ลักษณะเส้นใยและ conidia ของเชื้อรา unknown 2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบเบื้องต้นในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จาก
 ชันพืช

จากการปลูกเชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากชันพืช จำนวน 20 ไอ
 โซเลท พบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 6 ไอโซเลท ทำให้เกิดโรคกับกล้วยไข่ ระยะแรก
 แผลมีขนาดเล็กต่อมาแผลจะเจริญลุกลามทำให้เกิดโรคทั่วทั้งผล แผลมีสีน้ำตาล และปรากฏเส้นใย
 สีขาว ฟู เจริญอยู่ แผลจะลุกลามขยายไปเรื่อยๆ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 แผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp.

- a = เชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp. ไม่ทำให้เกิดโรค
- b = เชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp. ทำให้เกิดอาการจุดขนาดเล็ก
 สีน้ำตาล
- c = เชื้อราแอนโดไฟท์ *Colletotrichum* spp. ทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่สี
 น้ำตาล

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุในห้อยปฏิบัติการ

จากการนำเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากแปลงปลูกเกษตรกรรมอำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 216 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Colletotrichum musae* เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไข่ ด้วยวิธี Dual Culture Technique ทำการบันทึกผล ถ่ายภาพเมื่อปฏิริยาสิ้นสุดที่ 7 วัน และวิเคราะห์ผลการยับยั้งโดยคำนวณตามสูตรทางสถิติ พบปฏิริยาสัมพันธ์ของเชื้อรา *Colletotrichum musae* และเชื้อราเอนโดไฟต์ใน 4 ลักษณะคือ

1. ปฏิริยาสัมพันธ์ในลักษณะเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญช้า จึงถูกเชื้อรา *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็น pathogen เจริญรุกเข้าไปคลุม
2. ปฏิริยาสัมพันธ์ในลักษณะเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญเร็วและสร้างสารยับยั้ง ทำให้โคโลนีของ *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็น pathogen ไม่สามารถเจริญได้ตามปกติ
3. ปฏิริยาสัมพันธ์ในลักษณะเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญช้ากว่า แต่สร้างสารยับยั้ง มิให้เชื้อ *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็น pathogen เจริญผ่านไปได้
4. ปฏิริยาสัมพันธ์ในลักษณะเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญเร็วกว่า จึงเจริญรุกเข้าไปคลุมเชื้อรา *Colletotrichum musae* ซึ่งเป็น pathogen

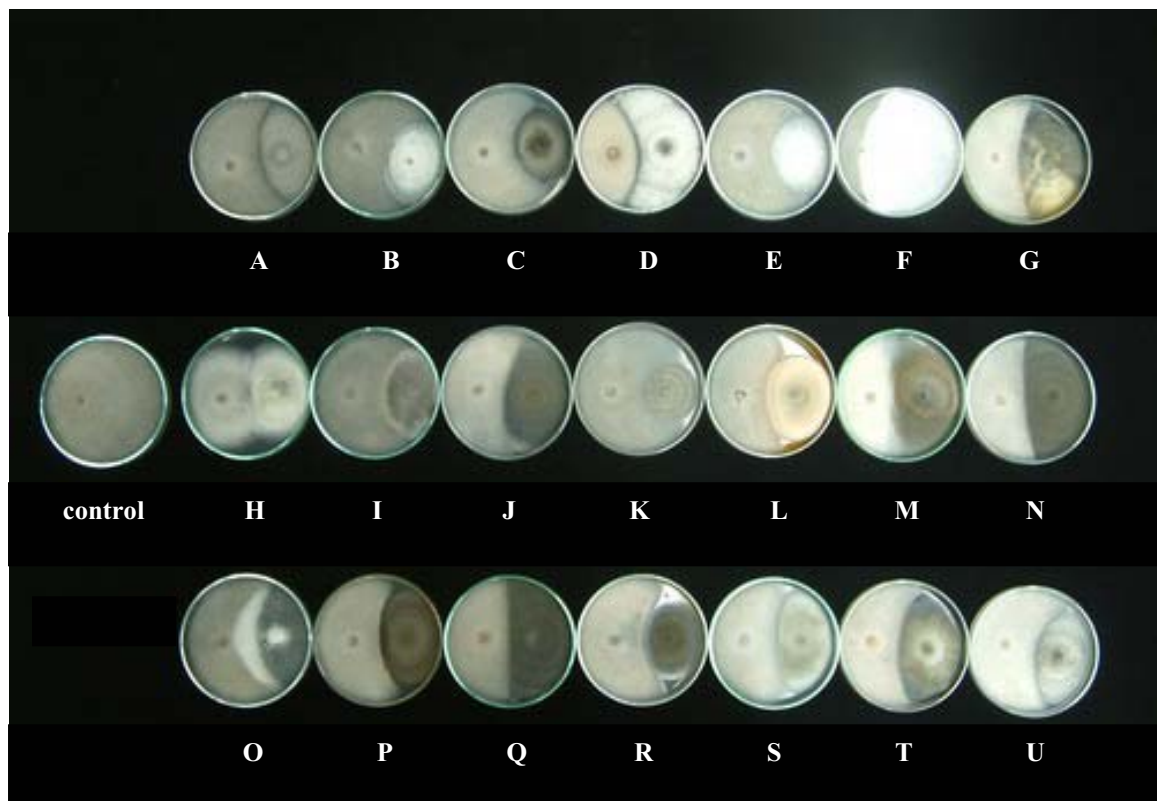
และพบว่าเชื้อรา Mycelia Sterilia 19 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* ได้ดีที่สุดที่ 77.77% ในปฏิริยาสัมพันธ์ในลักษณะเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญคลุมเชื้อรา *Colletotrichum musae* ประมาณค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก (very high antagonistic activity) รองลงมาคือ *Colletotrichum* sp. 5 สามารถยับยั้งได้ที่ 64.87% ถือว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง (high antagonistic activity) เชื้อรา Mycelia Sterilia 9, *Colletotrichum* sp. 4, *Nigrospora* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ที่ 60.37%, 63.70% และ 53.33% ประมาณค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง (moderate antagonistic activity) และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. 6 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ที่ 48.15% ประมาณค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ (low antagonistic activity) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่าเชื้อรา Mycelia Sterilia 19, *Colletotrichum* sp. 5, Mycelia Sterilia 9, *Colletotrichum* sp. 4 และ *Colletotrichum* sp. 6 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 13-14)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากใบข้าวโพด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไข่ (เรียงจากสูงไปต่ำ)

เชื้อราเอนโดไฟต์	ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Colletotrichum musae</i> ¹
Mycelia Sterilia 19	77.77a ²
<i>Colletotrichum</i> sp. 5	64.87b
Mycelia Sterilia 9	60.37c
<i>Colletotrichum</i> sp. 4	53.70d
<i>Nigrospora</i> sp.	53.33de
Mycelia Sterilia 30	53.33de
<i>Drechslera</i> spp.	52.59def
<i>Curvularia</i> spp.	52.22defg
Mycelia Sterilia 28	51.48defgh
<i>Curvularia</i> spp.	50.74defghi
Mycelia Sterilia 32	50.74defghi
<i>Curvularia</i> spp.	50.37efghi
<i>Colletotrichum</i> sp.7	49.99fghi
<i>Drechslera</i> spp.	49.63fghi
<i>Curvularia</i> spp.	49.26ghij
<i>Colletotrichum</i> sp. 3	49.26ghij
<i>Deightoneilla</i> spp.	48.89hijk
Mycelia Sterilia 35	48.89hijk
<i>Colletotrichum</i> sp. 6	48.15ijk
Unknown 2	47.77ijk
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	46.29jkl
<i>Deightoneilla</i> spp.	45.92kl
<i>Curvularia</i> spp.	43.33lm
Unknown 1	42.59mn
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	39.99n
CV%	3.72

1 = ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ (ที่อายุ 7 วัน)

2 = ตัวอักษรที่เหมือนกันใน column เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ค่าความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 13 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* โดยเชื้อราเอนโดไฟต์จาก
ก้านกล้วยไม้จำนวน 21 ไอโซเลต เทียบกับชุดควบคุม

A = *Curvularia* sp.3

B = *Colletotrichum* sp.1

C = *Drechslera* sp.3

D = *Nigrospora* sp.

E = unknown 2

F = *Mycelia Sterilia* 19

G = *Curvularia* sp.27

H = *Colletotrichum* sp.4

I = unknown 1

J = *Deightonella* sp.

K = *Curvularia* sp.38

L = *Curvularia* sp.43

M = *Mycelia Sterilia* 27

N = *Mycelia Sterilia* 30

O = *Colletotrichum* sp.5

P = *Mycelia Sterilia* 32

Q = *Drechslera* sp.6

R = *Mycelia Sterilia* 35

S = *Colletotrichum* sp.7

T = *Curvularia* sp.59

U = *Colletotrichum* sp.6



ภาพที่ 14 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum musae* โดยเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบกล้วยไฉ่จำนวน 5 ไอโซเลต เทียบกับชุดควบคุม (จานแรกแถวบน)

สรุปและวิจารณ์ผล

การแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบกล้วยไฉ่ จากแปลงปลูกเกษตรกร อ.เมือง จ.นครสวรรค์ ได้เชื้อราเอนโดไฟต์จำนวน 216 ไอโซเลต (90%) เมื่อนำมาทำการจัดกลุ่ม และจำแนกชนิดของเชื้อราแล้ว สามารถจำแนกได้ 13 สกุล คือ *Colletotrichum* spp., *Curvularia* spp., *Nigrospora* sp., *Alternaria* sp., *Phyllosticta* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., Unknown 1, Unknown 2, Unknown 3, *Drechsler* sp., *Deightoneilla* spp. และราในกลุ่ม *Mycelia Sterilia* ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum musae* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกล้วยไฉ่ในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dual Culture Technique (Bi-culture) พบว่าเชื้อรา *Mycelia Sterilia* 19 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุดที่ 77.77% ซึ่งจัดว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก (very high antagonistic activity)

เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 104 หน้า.
- Carroll, G. C. 1990. Fungal endophytes in vascular plants : Mycological Research Opportunities Japan. Transaction Mycology Society of Japan, 31: 103-116.
- Belanger, F. C. 1996. A rapid seeding screening method for determination of fungal Endophyte viability. Crop Science, 36 : 460-462.

บทที่ 4

อิทธิพลของพาโคบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไข่

คำนำ

จังหวัดนครสวรรค์เป็นแหล่งปลูกกล้วยไข่ที่สำคัญแห่งหนึ่งของประเทศไทย ในด้านการผลิตบ่อยครั้งที่เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยมักประสบกับปัญหาด้านกล้วยถูกลมพัดอย่างรุนแรง ทำให้ต้นล้มก่อนที่จะเก็บเกี่ยวผลผลิต เกษตรกรบางรายไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย การถูกลมพัดและต้นล้มนี้อาจจะเป็นเพราะว่าต้นกล้วยไข่มีความสูงมากเกินไป (คำปัน, 2550) ดังนั้นการลดความสูงของต้นลงอาจจะช่วยลดจำนวนต้นกล้วยที่ล้มเนื่องจากลมพัดลงได้ มีรายงานการใช้สารชะลอการเจริญเติบโต (growth retardants) ในกล้วย เช่นงานวิจัยของ Albany *et al.* (2005) พบว่าการใช้สาร ancymidol และ pachobutrazol ช่วยลดความสูงของลำต้น และลดขนาดของใบกล้วย Grand Nain (*Musa AAA*) ลงได้นอกจากนั้น El-Otmani *et al.* (1992) พบว่า หากใช้ paclobutrazol พ่นบนใบกล้วย หรือใส่สารชนิดนี้ลงในดินแล้วปลูกกล้วย Grand Nain ทำให้อัตราการเจริญของต้นกล้วยลดลงเช่นกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการปลูกกล้วยไข่พันธุ์ KU2 และพันธุ์สุโขทัย (พันธุ์พื้นเมือง) เมื่อวันที่ 16 สิงหาคม 2550 โดยขึ้นร่องแปลงปลูก ขนาดแปลงกว้าง 1 เมตร ร่องระหว่างแปลงกว้าง 30 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) ก่อนปลูกนำต้นพันธุ์กล้วยไข่ทั้ง 2 พันธุ์แช่ในสารละลาย pachobutrazol ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ที่ 0 (control), 50, 250 และ 500 ppm ทั้ง 4 กรรมวิธี (treatment) ทำ 10 ซ้ำ การทดลองนี้ แบ่งเป็น 2 การทดลอง หรือ ทดสอบกับกล้วยไข่ 2 พันธุ์ ในแต่ละการทดลองวางแผนแบบ randomized complete-block design เมื่อเก็บรวบรวมข้อมูลเสร็จ นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ program Statistix version 8

ผลการทดลอง

หลังปลูกทดลองทำการวัดความสูง และเส้นรอบวงของลำต้น ครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 6 เมษายน 2551 (7 เดือน 21 วันหลังปลูก) และครั้งที่ 2 เมื่อ 13 กรกฎาคม 2551 (10 เดือน 27 วันหลังปลูก)(ภาพที่ 2) ผลปรากฏว่า ต้นกล้วยบางส่วนตาย ทำให้เกิด missing data ไปจำนวนหนึ่ง ซึ่งไม่สามารถนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติตามแผนการทดลองที่ได้วางไว้ คือ RCBD จึงนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์แบบ one way classification หรือแบบ CRD ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบกลุ่มของข้อมูล ผลการวิเคราะห์พบว่า การวัดความสูง และเส้นรอบวงของลำต้นทั้ง 2 ครั้ง ของทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในเชิงสถิติ และถึงแม้ว่าการวิเคราะห์หว่าเรียนช้จะไม่ต่างกัน แต่เมื่อนำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบกันโดยวิธี *lest significant difference (lsd)* พบว่า การวัดความสูงในครั้งแรก มีความสูงของพันธุ์ KU2, T3 (paclobutrazol 500 ppm) สูง 174 เซนติเมตร แตกต่างจาก ความสูงของพันธุ์ พันธุ์พื้นเมือง (SK, T1) ที่สูงเพียง 117.57 เซนติเมตร ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนตัวแปรที่เหลือเมื่อนำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบกันพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 1 และ 2)

สรุปผลการทดลอง

การใช้สารชะลอการเจริญเติบโต เพื่อลดความสูงของต้น โดยใช้สาร paclobutrazol บนกล้วยไข่ 2 พันธุ์ คือ พันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในด้านความสูง และเส้นรอบวงของกล้วยไข่ทั้ง 2 พันธุ์ ที่มีการใช้สาร และไม่ใช้สาร



ภาพที่ 2 ต้นกล้วยไข่หลังปลูก 1 เดือน 7 เดือน และ 10 เดือน

ตารางที่ 1 ความสูง และเส้นรอบวงของลำต้นของกล้วยไม้พันธุ์พื้นเมือง (SK) และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 (KU2) ที่ได้รับการแช่ในสาร paclobutrazol 50, 250, 500 และ 0 (control) ppm ก่อนปลูก วัดค่าตัวแปรทั้ง 2 ครั้งแรก เมื่อ 6 เมษายน 2551 หรือ 7 เดือน 21 วันหลังปลูก

กรรมวิธี	n	ความสูง (ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)
T1, SK, Paclobutrazol 50 ppm	7	117.57 b	32.14 a
T2, SK, Paclobutrazol 250 ppm	8	128.75 ab	35.50 a
T3, SK, Paclobutrazol 500 ppm	8	146.63 ab	35.13 a
T4, SK, Control	8	134.38 ab	35.50 a
T1, KU2, Paclobutrazol 50 ppm	9	158.44 ab	36.56 a
T2, KU2, Paclobutrazol 250 ppm	6	136.33 ab	34.67 a
T3, KU2, Paclobutrazol 500 ppm	6	174.00 a	39.33 a
T4, KU2, Control	9	147.44 ab	36.22 a
<i>Lsd</i> ($p=0.05$) ^a	-	-	-
CV	-	31.14 %	23.17 %

^a = ไม่ได้แสดงค่า *Lsd* เนื่องจากจำนวนซ้ำของแต่ละกรรมวิธีไม่เท่ากัน

Bartlett's test of equal variances ของกรรมวิธีทั้ง 8 ของความสูง, $df=7$, $p=0.9019$.

Bartlett's test of equal variances ของกรรมวิธีทั้ง 8 ของเส้นรอบวง, $df=7$, $p=0.0699$.

ตารางที่ 2 ความสูง และเส้นรอบวงของลำต้นของกล้วยไข่พันธุ์พื้นเมือง (SK) และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 2 (KU2) ที่ได้รับการแช่ในสาร paclobutrazol 50, 250, 500 และ 0 (control) ppm ก่อนปลูก วัดค่าตัวแปรทั้ง 2 ครั้งที่ 2 เมื่อ 13 กรกฎาคม 2551 หรือ 10 เดือน 27 วันหลังปลูก

กรรมวิธี	n	ความสูง (ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)
T1, SK, Paclobutrazol 50 ppm	7	190.14 a	44.71 a
T2, SK, Paclobutrazol 250 ppm	8	185.00 a	44.13 a
T3, SK, Paclobutrazol 500 ppm	7	188.57 a	45.88 a
T4, SK, Control	8	199.88 a	44.88 a
T1, KU2, Paclobutrazol 50 ppm	9	212.00 a	47.89 a
T2, KU2, Paclobutrazol 250 ppm	7	210.43 a	45.00 a
T3, KU2, Paclobutrazol 500 ppm	5	199.20 a	40.80 a
T4, KU2, Control	9	190.11 a	43.44 a
<i>Lsd</i> ($p=0.05$) ^a	-	-	-
CV	-	25.16 %	22.96 %

^a = ไม่ได้แสดงค่า *Lsd* เนื่องจากจำนวนซ้ำของแต่ละกรรมวิธีไม่เท่ากัน

Bartlett's test of equal variances ของกรรมวิธีทั้ง 8 ของความสูง, $df=7$, $p=0.9356$.

Bartlett's test of equal variances ของกรรมวิธีทั้ง 8 ของเส้นรอบวง, $df=7$, $p=0.7540$.

เอกสารอ้างอิง

คำปิ่น นพพันธ์. 2550. นักวิชาการส่งเสริมการเกษตร สำนักงานเกษตรอำเภอเมือง อ. เมือง จ. นครสวรรค์. 60000. ติดต่อบุคคล.

Albany, N. R., J. A. Vilchez, L. Garcia and E. Jiménez. 2005. Comparative study of morphological parameters of Grand Nain banana (*Musa AAA*) after *in vitro* multiplication with growth retardants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 83: 357-361.

El-Otmani, M., K. Jabri, and M. Sedki. 1992. Paclobutrazol effect on development of greenhouse-grown banana: a 2 year assessment. ISHS Acta Horticulturae 296: Tropical Fruits, XXIII I.H.C. (abstract online).

ภาคผนวก