



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจาก
เชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยชีววิธี

Biological control of pummelo root and shoot rot disease
caused by *Phytophthora* spp.

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. วาริน อินทนา และคณะ

เมษายน พ.ศ. 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจาก
เชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยชีววิธี

Biological control of pummelo root and shoot rot disease
caused by *Phytophthora* spp.

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|--|-----------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร. วาริน อินทนา | มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |
| 2. รองศาสตราจารย์ ดร. มนตรี อิศรไกรศีล | มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

การควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยชีววิธี

วาริน อินทนา และมนตรี อีสระไกรศีล

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B-261 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด เมื่อเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มเดียวกัน โดยยับยั้งได้ที่ 79.99 และ 33.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มโอ การลดปริมาณเชื้อราโรคพืช และการลดการครอบครองรากของเชื้อราโรคพืช พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียมให้ผลในทุกด้านดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ และดีกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 เพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะในด้านการควบคุมโรคพบว่าช่วยให้กิ่งตอนส้มโอมีความสมบูรณ์ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม 2 ที่ไม่ใช่เชื้อราโรคพืช ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าในเดือนที่ 6 ของการทดลองเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 สามารถเจริญเข้าครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอได้สูงถึง 100.00 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้เชื้อราโรคพืช *P. palmivora* ไม่สามารถเจริญเข้าครอบครองรากกิ่งตอนส้มโอได้เลย (0.00 เปอร์เซ็นต์) สำหรับการทดสอบในสภาพแปลงพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียม สามารถลดปริมาณเชื้อราโรคพืชในดินและลดการครอบครองรากของเชื้อราโรคพืชได้อย่างชัดเจน

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยไม้ผลเขตร้อน ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และลูกจ้างแรงงานทุกคนที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยไม่ว่าจะเป็นเรื่องสถานที่หรืออุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ที่ให้คำปรึกษาในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์.ดร.อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์ ผู้ประสานงานโครงการวิจัย

ขอบคุณเกษตรกรทุกท่านที่ได้ให้ข้อมูล ในการทำงานวิจัย ไม่ว่าจะเป็นการให้ข้อมูลด้านการปลูกส้มโอหรือปัญหาต่างๆ ที่เกษตรกรประสบในขบวนการปลูกพืชดังกล่าว ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์อย่างมากในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ โดยเฉพาะคุณสัญญา แสงวิมาน ที่ให้ความอนุเคราะห์ปลูกส้มโอเพื่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณอรรถกร พรหมวี และคุณสรวิชัย เขวงเกียรติ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยทั้งในท้องปฏิบัติการ โรงเรือนปลูกพืชทดลอง ตลอดจนการปฏิบัติงานนอกพื้นที่ส่วนของเกษตรกร จนทำให้โครงการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จตามแผนงานที่ได้วางไว้ ขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *Phytophthora parasitica* เพื่อใช้ในการวิจัย

ขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้

รองศาสตราจารย์ ดร. วาริน อินทนา
รองศาสตราจารย์ ดร. มนตรี อิศรไกรศีล
นักวิจัย

Summary Execution

การศึกษาค้นคว้าได้นำเชื้อราโรคพืช 2 ชนิด คือเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และ *P. parasitica* มาทดสอบความรุนแรงในการก่อโรครากับใบส้มโอเบื้องต้น พบว่าเชื้อรา *P. palmivora* สามารถก่อโรคนบนใบส้มโอรุนแรงที่สุด ซึ่งมีความรุนแรงที่ 80.00 เปอร์เซ็นต์ จึงได้คัดเลือกสายพันธุ์ดังกล่าวนี้ใช้ในการทดลองต่อไป จากนั้นได้นำเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 และ สายพันธุ์ CB-Pin-01 รวมทั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 และ *B. pumilus* สายพันธุ์ B-NST-01 มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 ไว้ใช้ในการทดลองต่อไปเพราะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโรคพืชได้ดีกว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในกลุ่มเดียวกัน นั่นคือ สามารถยับยั้งได้ที่ 79.77 และ 33.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ผ่านการคัดเลือกมาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มโอในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง โดยนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับผงแคลเซียม เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี metalaxyl พบว่าเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 เพียงอย่างเดียวเท่านั้นที่สามารถทำให้กิ่งตอนส้มโอมีความสมบูรณ์ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม 2 ที่ไม่ใส่เชื้อราโรคพืช และสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อราโรคพืชในดินปลูกกิ่งตอนส้มโอได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียม ที่พบว่ามีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเกิดโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มโอและลดปริมาณเชื้อราโรคพืชในดินปลูก ในด้านการเข้าครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอพบว่ามีเพียง 3 กรรมวิธี ที่สามารถลดการเข้าครอบครองรากกิ่งตอนส้มโอโดยเชื้อราโรคพืชได้นั่นคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียม กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 เพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 เพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียมที่พบว่าจะสามารถลดการครอบครองรากของเชื้อราโรคพืชได้ดีที่สุด นั่นคือ ไม่พบการครอบครองรากส้มโอเลยในเดือนที่ 6 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบเชื้อราปฏิปักษ์เจริญเข้าครอบครองรากกิ่งตอนส้มโอได้ถึง 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่เดือนที่ 4 และ 6 ของการทดลอง กรรมวิธีดังกล่าวจึงถูกคัดเลือกไปใช้ในการทดสอบในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

เมื่อนำกรรมวิธีที่ผ่านการคัดเลือก (*T. harzianum* ร่วมกับผงแคลเซียม) มาทดสอบในสภาพสวนของเกษตรกร พบว่าให้ผลการทดลองที่ดี นั่นคือสามารถลดปริมาณเชื้อราโรคพืชในดินได้ เมื่อ

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใช้ผงแคลเซียมเพียงอย่างเดียว (ทั้ง 2 กรรมวิธี นี้พบว่า มีปริมาณเชื้อราโรคพืชเพิ่มขึ้น) นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับผงแคลเซียม สามารถลดการครอบครองรากของต้นส้มโอได้เมื่อระยะเวลาในการทดลองมากขึ้น ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใช้ผงแคลเซียมเพียงอย่างเดียวพบการครอบครองรากส้มโอเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการทดลองมากขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียม ช่วยให้ตรวจพบการครอบครองรากส้มโอโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. เพิ่มขึ้นจนอยู่ในระดับ 22.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบเพียง 1.50 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
กิตติกรรมประกาศ	(2)
Summary Execution	(3)
สารบัญ	(5)
สารบัญตาราง	(6)
สารบัญภาพ	(7)
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
3. ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
1. ข้อมูลทั่วไปของสัมิโอ	3
2. ปัญหาด้านโรคที่สำคัญทางเศรษฐกิจของสัมิโอ	6
3. การควบคุมโรคของสัมิโอ	9
4. จุลินทรีย์ท้องถิ่น	10
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	13
1. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (ทำเพิ่มเติมนอกเหนือจากข้อเสนอโครงการวิจัย)	13
2. การทดสอบในระดับโรงเรียน	15
3. การควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูก	19
บทที่ 4 ผลการวิจัย	20
1. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (ทำเพิ่มเติมนอกเหนือจากข้อเสนอโครงการวิจัย)	20
2. การทดสอบในระดับโรงเรียน	24
3. การควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูก	36
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการวิจัย	40
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	44
เอกสารอ้างอิง	45
ภาคผนวก	51

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญและคลุมทับเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน	21
2	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เมื่อทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน	23
3	ความสมบูรณ์ของกิ่งตอนส้มโอพันธุ์ขาวทองดี หลังทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ภายในโรงเรือนปลูกพืชทดลองเป็นระยะเวลา 6 เดือน	28
4	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปที่ตรวจพบในดินหลังทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ภายในโรงเรือนปลูกพืชทดลองเป็นระยะเวลา 6 เดือน	31
5	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อราโรคพืชที่ตรวจพบในดินจากกระถางหลังทำการทดสอบการควบคุมโรครากเน่าในกิ่งตอนส้มโอที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ภายในโรงเรือนปลูกพืชทดลองเป็นระยะเวลา 6 เดือน	32
6	สัดส่วนการครอบครองพื้นที่รากของกิ่งตอนส้มโอโดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> และเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เมื่อตรวจสอบทุก 2 เดือน หลังทำการทดลองภายในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง	35
7	ปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราโรคพืชที่ตรวจพบในดินจากแปลงปลูกส้มโอหลังทำการฉีดพ่นเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> สายพันธุ์ T-NST-01 ร่วมกับผงแคลเซียมเป็นเวลา 6 เดือน	38
8	การครอบครองรากส้มโอโดยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ เชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp. ในสภาพแปลงปลูกหลังทำการทดลองเป็นเวลา 6 เดือน	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	ลักษณะของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ carrot agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (A) เชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> (B) เชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (C) ลักษณะ Sporangium และ (D) ลักษณะ Chlamydospore เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	20
2	ลักษณะของเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> สายพันธุ์ T-NST-01 และสายพันธุ์ CB-Pin-01 ในการยับยั้งการเจริญและคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เมื่อทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (T= <i>Trichoderma harzianum</i> , P= <i>Phytophthora palmivora</i>)	22
3	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar หลังบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (P= <i>Phytophthora palmivora</i> , B-NST-01= <i>Bacillus pumilus</i> , B-261= <i>Bacillus subtilis</i>)	23
4	ลักษณะเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ที่เจริญบนอาหาร oat meal sand ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 วัน	24
5	ลักษณะของเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> สายพันธุ์ T-NST-01 (A) ขณะเจริญบนเมล็ดข้าวสาลีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 วัน (B) สปอร์แขวนลอยที่ผ่านการกรองแล้วความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร	25
6	ลักษณะของผงเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> สายพันธุ์ B-261 ที่ผ่านการผสมสารพาและกรองเป็นผงเชื้อแล้ว	26

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ส้มโอ (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยในแต่ละปีประเทศไทยสามารถส่งออกส้มโอเป็นมูลค่ามากกว่า 100.00 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศการเกษตรสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) ดังนั้นปัจจุบันจึงพบการปลูกส้มโอในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำต่างๆ ของประเทศไทย รวมทั้งพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งพันธุ์ที่นิยมปลูกมีมากมายหลายพันธุ์ไม่ว่าจะเป็น ขาวพวง ขาวทองดี ขาวน้ำผึ้ง ทับทิมสยาม ขาวแป้นขาวหอม ขาวแตงกวา ท่าช้อย ขาวใหญ่ หอมหาดใหญ่เจ้าเสวย กรุ่น และขาวแก้ว เป็นต้น

อย่างไรก็ตามปัจจุบันการปลูกส้มโอนั้นมีปัญหาหลายประการที่ส่งผลกระทบต่อให้ผลผลิตของส้มโอลดลง รวมถึงปัญหาในด้านโรคพืชที่พบว่ามีโรคที่สำคัญหลายโรคที่สามารถเข้าทำลายต้นส้มโอไม่ว่าจะเป็นโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. โรคแคงเกอร์ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye. โรคกรีนนิ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Bacterial like organism และโรคทริสเทซาที่เกิดจากเชื้อไวรัส Citrus Tristeza Virus (CTV) ซึ่งโรคเหล่านี้มีแนวโน้มในการก่อให้เกิดความเสียหายแก่ส้มโอมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรครากเน่าโคนเน่าซึ่งจัดเป็นโรคที่มีแนวโน้มมีความสำคัญยิ่งขึ้นเรื่อยๆ จึงจำเป็นต้องศึกษาหาแนวทางที่ดีและเหมาะสมในการควบคุมโรคดังกล่าว

ขณะนี้คณะวิจัยสามารถคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma harzianum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ท้องถิ่นที่แยกได้จากดินบนเทือกเขาหลวง จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีประสิทธิภาพสูงมากในการควบคุมโรคพืชไม่ว่าจะเป็นโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โรคเน่าระดับดินของคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* โรคไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* และโรคกาบใบเน่าของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Sarocladium oryzae* นอกจากการควบคุมโรคพืชแล้วเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สายพันธุ์ดังกล่าวยังสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้ดีในสภาพแวดล้อมของพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ดังนั้นคณะวิจัยจึงสนใจอย่างยิ่งที่จะนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้มาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและช่วยลดปริมาณของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรครากและโคนเน่าของส้มโอทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูกส้มโอของ

เกษตรกร เพื่อเป็นแนวทางที่ดีในการควบคุมโรคดังกล่าวในสภาพแปลงปลูก อันจะก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมากต่อเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอตลอดจนผู้สนใจอื่นๆ ต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอที่เกิดจากเชื้อราโรคพืช *Phytophthora* sp. ทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูก
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราโรคพืช *Phytophthora* sp. ทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูก
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการเจริญเข้าครอบครองรากของส้มโอทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูก
4. เพื่อศึกษาผลของการควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอโดยชีววิธีต่อปริมาณและความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์ดินอื่นๆ ทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูก
5. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของธาตุอาหารแคลเซียมต่อประสิทธิภาพการควบคุมโรครากเน่าของส้มโอทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพแปลงปลูก

3. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอ การลดปริมาณเชื้อราโรคพืช และประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการเจริญเข้าครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอทั้งในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงของเกษตรกร
2. ทราบแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อการแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอในการจัดการโรครากและโคนเน่าในสวนส้มโอ รวมทั้งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมโรคของพืชอื่นๆ โดยชีววิธีต่อไป

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลทั่วไปของส้มโอ

1.1 พื้นที่ปลูก

พื้นที่การปลูกส้มโอกระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งส้มโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินโปร่งร่วนซุย ระบายน้ำดี แต่ถ้าเป็นดินเหนียวควรมีการยกร่องดินควรมีความ เป็นกรดต่ำปานกลาง ส้มโอต้องการน้ำอย่างสม่ำเสมอ ฉะนั้นพื้นที่ปลูกส้มโอควรมีปริมาณน้ำฝน เฉลี่ยปีละ 1,500-2,000 มิลลิเมตร และควรเลือกพื้นที่ปลูกอยู่ใกล้แหล่งน้ำหรือสามารถให้น้ำแก่ ต้นส้มโอได้ในเวลาที่พืชต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียสปัจจุบันพื้นที่ การปลูกส้มโอของประเทศไทยสามารถแบ่งตามภาคต่างๆ ได้ดังนี้

ภาคเหนือได้แก่ พิจิตร อุทัยธานี นครสวรรค์ และเชียงราย

ภาคกลางได้แก่ ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี อ่างทอง สระบุรีนนทบุรี ปทุมธานี และ พระนครศรีอยุธยา

ภาคตะวันออกได้แก่ นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ตราด และสระแก้ว

ภาคตะวันตกได้แก่ สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรีเพชรบุรี สมุทรสาคร และ สมุทรสงคราม

ภาคใต้ ได้แก่ พัทลุง สงขลา ระนอง พังงา ชุมพร กระบี่ สตูล นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และตรัง

แหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ 5 อันดับแรกของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสมุทรสงคราม พิจิตร ชุมพร นครศรีธรรมราช และกาญจนบุรี สำหรับพื้นที่ปลูกส้มโอทั้งประเทศนั้นมีประมาณ 201,000 ไร่ ซึ่งให้ผลผลิตกว่า 305,500 ตัน โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,500 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับพื้นที่การ ปลูกส้มโอของจังหวัดนครศรีธรรมราชพบว่ามีมากกว่า 10,000 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552)

1.2 พันธุ์

พันธุ์ส้มโอที่ปลูกในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ซึ่งอาจมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตาม แต่ละท้องถิ่น และแต่ละพันธุ์มีเนื้อสีแตกต่างกัน ทำให้สามารถแบ่งสีของผลส้มโอได้เป็น 4 ประเภท คือ สีครีมอ่อน สีครีมแก่ สีชมพูอ่อน และสีชมพูแก่ (วิเศษ, 2540) โดยทั่วไปสามารถแบ่งพันธุ์ส้มโอที่ปลูก เป็นการค้าออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือพันธุ์การค้าหลักมี 6 พันธุ์ คือขาวพวงขาวแป้นขาวทองดีบางขุน นนท์ขาวใหญ่ และขาวหอมและพันธุ์การค้าเฉพาะแห่งมี 6 พันธุ์ ได้แก่ปัตตาเวียขาวแตงกวาขาวแก้ว

กรุ่นท่าข่อย และน้ำผึ้งสำหรับพันธุ์ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ต้องการของตลาดมีอยู่ 3 พันธุ์ คือ ขาวพวง ขาวทองดี และขาวแป้นซึ่งรายละเอียดของส้มโอบางพันธุ์มีดังนี้

1.2.1 พันธุ์ขาวพวง

ส้มโอบ้านนี้มีผลรูปร่างยาวรี ลักษณะมันเป็นมันและหนา สีเขียว ผลมีขนาดโตปานกลางทรงผลกลมสูงเล็กน้อย มีจุดสูง มีจีบที่จุดสูง 15-18 เซนติเมตร เฉพาะจุดสูง 1.5-2.0 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 13 เซนติเมตร ด้านกันเว้าเล็กน้อยผิวเรียบมีสีเขียวอมเหลือง ต่อม้ำมันค่อนข้างใหญ่ อยู่ห่างกันพอสมควร เปลือกหนา 1.5 เซนติเมตร สีขาว มีกลีบประมาณ 12-14 กลีบต่อผล ตัวกุ่มมีสีขาวอมเหลืองค่อนข้างแข็งและใหญ่ มีน้ำมาก รสหวานอมเปรี้ยว เมล็ดน้อยถึงไม่มีเลยเป็นพันธุ์ที่ให้ผลดกและเร็วกว่าพันธุ์อื่นๆ มีช่วงอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 7 เดือน ผลเก็บไว้ได้นานไม่เน่าเสียได้ง่าย ดังนั้นส้มโอบ้านนี้จึงส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้มากกว่าพันธุ์อื่น

1.2.2 พันธุ์ขาวทองดี

ส้มโอบ้านนี้มีผลรูปร่างกลมแป้น ลักษณะค่อนข้างมนหรือกลม บริเวณริมใบเป็นจักเล็กๆ และมีจักใหญ่ 1 จักตรงส่วนปลายใบ ผลมีรูปร่างกลมแป้น ขนาดโตปานกลาง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 เซนติเมตร สูงประมาณ 12 เซนติเมตร ไม่มีจุด ที่หัวมีจีบเล็กน้อยกันเรียบถึงว่าเล็กน้อย ผิวเรียบสีเขียวและมีขนอ่อนนุ่มเล็กน้อยด้านปลายผลลักษณะค่อนข้างตัด เปลือกบางมีสีชมพูอ่อน หนาประมาณ 1.2 เซนติเมตรกลีบมีประมาณ 16 กลีบต่อผล สีของผนังกลีบมีสีชมพูอ่อน ตัวกุ่มมีสีชมพูอ่อน เบียดกันแน่น มีลักษณะนิ่ม ฉ่ำน้ำ รสหวานไม่อมเปรี้ยว มีเมล็ดจำนวนมากแต่มีขนาดเล็กเป็นพันธุ์ที่มีรสชาติถูกกับรสนิยมของคนไทยจึงเป็นที่นิยมบริโภคภายในประเทศกันมาก

1.2.3 พันธุ์ขาวแป้น

ลักษณะลำต้นเป็นพุ่มเตี้ย ไม่สูงเหมือนพันธุ์อื่นๆ ส่วนของใบบางผลมีลักษณะกลมแป้น ผลโตปานกลาง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12-15 เซนติเมตร สูงประมาณ 10-12 เซนติเมตร ผลไม่มีจุดหรือจีบ ด้านกันเรียบ ปลายผลเว้าเล็กน้อยผิวเรียบและมีสีเหลืองอ่อน เปลือกหนาประมาณ 2 เซนติเมตรเปลือกติดกับเนื้อผลแน่นแกะค่อนข้างยาก มีกลีบผล 13 กลีบต่อผล เยื่อหุ้มกลีบ สีขาวหนาและเหนียว ตัวกุ่มมีน้ำมากยาวประมาณ 1.9-4.7 เซนติเมตรแยกออกจากกันได้ง่าย และแยกออกจากเยื่อหุ้มกลีบได้ง่ายเช่นกัน เนื้อผลสีเหลืองอมขาวรสหวานอมเปรี้ยว มีเมล็ดน้อย ส่วนมากเมล็ดลีบเป็นพันธุ์ที่เก็บไว้ได้นานเนื่องจากมีเปลือกหนาเป็นพันธุ์ที่นิยมบริโภคภายในประเทศ

1.2.4 พันธุ์ขาวใหญ่

เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่จังหวัดสมุทรสาคร ผลมีขนาดใหญ่ ทรงกลมสูงแต่ไม่เป็นจุดเด่นชัดเหมือนพันธุ์ขาวพวง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14-15 เซนติเมตรด้านกันเรียบ ผิวเรียบ มีสีเขียวเข้มอมเหลือง เปลือกหนาปานกลาง มีกลีบผล 14 กลีบตัวกุ่มมีสีขาวอมเหลือง ขนาดของกุ่ม

ค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่น มีน้ำมากแต่ไม่แฉะกึ่งค่อนข้างแข็ง รสชาติหวานกรอบอมเปรี้ยวนิดๆ เมล็ดมีขนาดใหญ่แต่มีจำนวนน้อย

1.2.5 พันธุ์ขาวหอม

ลักษณะเด่นของพันธุ์นี้คือ ผลที่เก็บไว้จะมีกลิ่นหอม ทรงผลกลม ขนาดผลใหญ่ปานกลางเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14-18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14 เซนติเมตรส่วนของเปลือกมีสีเขียวอมเหลืองอ่อนเล็กน้อย เปลือกค่อนข้างบาง ผิวเปลือกเรียบต่อมน้ำมันมีขนาดเล็กละเอียด ด้านหัวผลไม่มีจุกและไม่มีจิบ ปลายผลจะตัดเปลือกมีสีขาว มีกลีบจำนวน 13 กลีบต่อผล เยื่อหุ้มกลีบมีสีขาวกึ่งมีสีขาวอมเหลืองขนาดเล็กเบียดกันแน่น ไม่แฉะน้ำ รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ขณะรับประทานจะได้กลิ่นหอมด้วยจำนวนเมล็ดมีปานกลางหรือบางผลมีเมล็ดน้อยถึงไม่มีเมล็ดเลย ข้อเสียของส้มโอพันธุ์ขาวหอมคือ ให้ผลผลิตต่ำอ่อนแอต่อโรคแคงเกอร์และระยะเวลาเก็บเกี่ยวต้องได้เวลาพอดีคือ ประมาณ 9 เดือน จึงมีคุณภาพ

1.2.6 พันธุ์ปัตตาเวีย

ส้มโอพันธุ์นี้พบปลูกกันมากทางภาคใต้ของประเทศไทยคาดว่ามียีนกำเนิดในชาวแต่ไม่มีผู้ยืนยันที่แน่นอนผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 14-16 เซนติเมตร สูงประมาณ 12-14 เซนติเมตร ผลมีลักษณะกลมแป้น ทรงต่ำแบนๆ ผลสีเขียวอมเหลืองเปลือกค่อนข้างบางและมีสีขาว เนื้อมีสีชมพูอ่อน เนื้อฉ่ำน้ำรสหวานไม่มีรสเปรี้ยวเลย

1.2.7 พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทรงผลกลมสูงแต่ไม่มีจุกเด่นชัดเหมือนพันธุ์ขาวพวงด้านกันผลเรียบ ต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกมีขนาดใหญ่อยู่กันห่างๆผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม เปลือกค่อนข้างหนาผลหนึ่งมีกลีบผลประมาณ 11-12 กลีบแยกออกจากกันง่ายกึ่งมีสีขาวอมเหลืองขนาดกึ่งค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่นมีน้ำมากแต่ไม่แฉะ รสหวานอมเปรี้ยว สามารถแกะเนื้อออกมาได้ง่าย เมล็ดมีขนาดใหญ่แต่มีเมล็ดไม่มากนักเป็นที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป

1.2.8 พันธุ์ท่าข่อย

ผลมีขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15-18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14-16 เซนติเมตรทรงผลกลมสูง แต่ไม่มีจุกเด่นชัด ด้านหัวมีจิบเล็กน้อย ด้านกันเรียบถึงเว้าเล็กน้อย ผิวหยาบ สีค่อนข้างเหลือง เปลือกค่อนข้างหนามีลักษณะนุ่มคล้ายสำลี มีกลีบผล 12-14 กลีบ ผงกลีบมี สีออกชมพู กึ่งสีชมพูเรื่อๆ กึ่งมีขนาดใหญ่และเบียดกันแน่นมีน้ำมากจึงดูฉ่ำน้ำ รสชาติหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีเมล็ดน้อย

1.2.9 พันธุ์ทับทิมสยาม

เป็นพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอของอำเภอบางแพ จังหวัดนครราชสีมา ลักษณะประจำพันธุ์ของส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม มีลักษณะใบ

ค่อนข้างกว้าง ปลายใบแหลมได้ใบมีขนอ่อนนุ่ม ผลมีขนาดใหญ่เส้นรอบผลประมาณ 16-22 นิ้ว หัวจับ (คล้ายชาวพวง) ผิวผลมีขนอ่อนนุ่มปกคลุมทั่วผล คล้ายกำมะหยี่ เมื่อจับผลเบาๆ จะรู้สึกได้ ผิวเปลือกนุ่ม เปลือกบาง ถ้าเก็บเกี่ยวหรือขนส่งไม่ดี จะช้ำง่าย

1.3 โอกาสทางเศรษฐกิจของส้มโอ

ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ผลิตส้มโอรายใหญ่ที่มีส้มโอพันธุ์ดีตรงตามความต้องการของผู้บริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยผลผลิตส้มโอใช้บริโภคภายในประเทศ 96 เปอร์เซ็นต์ และส่งออกต่างประเทศ 4 เปอร์เซ็นต์ ในปี พ.ศ. 2552 สำนักงานสถิติเศรษฐกิจการเกษตรรายงานว่าประเทศไทยส่งออกผลส้มโอสดปริมาณ 12,000 ตัน เป็นมูลค่ากว่า 100 ล้านบาท โดยส่งออกไปยังประเทศฮ่องกง จีน แคนาดา และสิงคโปร์ คู่แข่งสำคัญในการค้าส้มโอของประเทศไทยคือ ประเทศอิสราเอล และเวียดนาม สำหรับโอกาสทางเศรษฐกิจของส้มโอไทยนั้นมีสูงเนื่องจากส้มโอมีรสชาติดี มีเปลือกหนาสามารถเก็บได้นานและขนส่งได้ไกล อีกทั้งยังเป็นที่ต้องการของตลาดโลก ปัจจุบันประเทศไทยมีส่วนแบ่งทางการตลาดโลกเพียง 1.08 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น เพราะการผลิตส้มโอของประเทศไทยส่งขายตลาดภายในประเทศเป็นหลัก หากสามารถผลิตเพื่อส่งจำหน่ายยังต่างประเทศคาดว่าจะมูลค่าการส่งออกจะเพิ่มสูงกว่าปัจจุบันอย่างแน่นอน

2. ปัญหาด้านโรคที่สำคัญทางเศรษฐกิจของส้มโอ

ส้มโอเป็นพืชที่พบการระบาดของโรคหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นโรคนางไหล โรคแคงเกอร์ โรคทริสเตซา โรคราดำ โรคกรีนนิ่ง และโรครากเน่าโคนเน่า เป็นต้น ซึ่งแต่ละโรคมีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่อส้มโอแตกต่างกันสำหรับรายละเอียดของโรคที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีดังต่อไปนี้

2.1 โรคแคงเกอร์

โรคแคงเกอร์เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* ถือเป็นโรคที่มีความสำคัญของส้มโอ ที่มีกระบาดในระยะที่ส้มโอแตกใบอ่อนและผลอ่อน สร้างความเสียหายต่อทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิต โรคนี้สามารถระบาดรุนแรงเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม โดยแพร่ระบาดไปกับกิ่งพันธุ์ดิน และน้ำ

ลักษณะอาการของโรค

โรคนี้เกิดได้ทั้งที่ใบ กิ่ง ก้าน และผล มีลักษณะอาการ ดังนี้ อาการบนใบใบอ่อนเกิดจุดกลม และฉ่ำน้ำ มีสีเหลืองซีดหรือเขียวอ่อนเมื่อขยายใหญ่ขึ้นมีลักษณะฟุคล้ายฟองน้ำสีเหลืองอ่อนต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม แตกสะเก็ดขรุขระนูนและแข็งตรงกลางเป็นรอยบุ๋มมีวงสีเหลืองล้อมรอบแผล การเกิดแผลนี้ส่วนใหญ่เกิดได้ทั้งสองด้านของใบและเกิดรุนแรงมากเมื่อหนอนชอนใบ

เข้าทำลายด้วยใบที่เป็นโรคนี้อีกครั้งก่อนกำหนดอาการบนกิ่งก้านเมื่อเชื้อทำลายกิ่งอ่อนเริ่มแรกเกิดจุดสีเหลืองนูน พุ่มเปลือกของกิ่งต่อมาแผลจะแตกแห้งเป็นสะเก็ดสีน้ำตาล แล้วลุกลามขยายออกไปตามความยาวหรือรอบกิ่งจนกลายเป็นปุ่มหรือปมขนาดใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอนและไม่มียางเหนียวสีเหลืองล้อมรอบแผล ถ้าเป็นโรครุนแรงทำให้ต้นแคระแกร็นกิ่งก้านแห้งตาย และทรุดโทรมอาจถึงตายได้สำหรับอาการบนผลนั้นจะเกิดจุดแผลฝักลึกลงไป ผิวผลอ่อน แผลนูนคล้ายพองน้ำ มีสีเหลืองเข้มต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแตกสะเก็ด มียางเหนียวสีเหลืองล้อมรอบแผลทำให้เกิดการปริแตกตามรอยแผล เชื้อสาเหตุสามารถเข้าสู่พืชทางปากช่องใบหรือบาดแผลได้ง่าย และสามารถฟักตัวอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน

การป้องกันกำจัด

นำต้นพันธุ์ปลอดโรคมาปลูก โดยเลือกซื้อต้นพันธุ์จากแหล่งที่น่าเชื่อถือหลีกเลี่ยงการปลูกส้มเขียวหวานหรือมะนาวใกล้เคียงกับแปลงส้มโอหากพบกิ่งที่เป็นโรคควรตัดและเผาทำลายทั้งป้องกันและกำจัดหนอนขอนใบอันเป็นสาเหตุหนึ่งในการเกิดโรคในกรณีที่เกิดโรคแคงเกอร์รุนแรงมากอาจใช้สาร streptomycin-sulfate หรือ agrimycin ฉีดพ่น แต่ไม่ควรซ้ำเกิน 3 ครั้ง จะทำให้เชื้อโรคดื้อสารเคมีได้ นอกจากนี้ควรกำจัดโรคให้หมดสิ้นในฤดูแล้งซึ่งทำได้ง่าย และควบคุมโรคตลอดฤดูฝน

2.2 โรคทริสเตซา

โรคทริสเตซาเป็นโรคที่มีความสำคัญและสร้างความเสียหายกับพืชตระกูลส้มเป็นจำนวนมาก โดยสร้างความเสียหายกับส้มที่ปลูกในประเทศอาร์เจนตินาและบราซิลมากกว่า 30 ล้านต้นนอกจากนี้ยังระบาดลุกลามไปยังประเทศอื่นๆ รวมทั้งประเทศไทยด้วย (บรรณ, 2542) โรคนี้อาจเกิดจากเชื้อไวรัส Citrus tristeza virus (CTV)

ลักษณะอาการของโรค

โดยทั่วไปต้นพืชจะแสดงอาการใบเหลือง ผลผลิตลดลงอย่างรวดเร็วผลส้มมีขนาดเล็ก ร่วงหล่น บริเวณลำต้นส้มโอหรือกิ่งมีลักษณะเป็นแอ่งปุ่มตามความยาวเมื่อลอกเปลือกจะพบเนื้อไม้สีน้ำตาลเป็นแอ่งปุ่มแคบๆ เป็นทางยาวหรือส่วนเปลือกมีเนื้อเยื่อคล้ายเป็นหนามยื่นออกมา ลักษณะอาการของโรคพบได้ชัดเจนในมะนาว ซึ่งจะพบเส้นใบเป็นขีดโปร่งแสงเมื่อส่องดูย้อนแสง และใบจะขีดเหลืองหงิกอาการเนื้อไม้เป็นแอ่งปุ่มรุนแรงทำให้ลำต้นส้มโทรมอย่างรวดเร็วในส้มโอจะพบใบด่างเหลืองเป็นจ้ำๆ ใบบิดงอและเส้นใบอาจนูนแข็งเป็นสีน้ำตาล ผลมีอาการด่างเขียวและเมื่อผ่าจะพบว่า มีเปลือกหนา ไล่โต เนื้อน้อย และเมล็ดลีบ

การป้องกันกำจัด

คัดเลือกต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรคมาปลูกกำจัดแมลงโดยเฉพาะแมลงปากดูดที่เป็นพาหะนำโรค เช่น เพลี้ยอ่อนส้ม หรือเพลี้ยอ่อนชนิดอื่นๆ เป็นต้นตัดแต่งกิ่งส้มโอ และดูแลรักษา

ต้นส้มโอให้แข็งแรงอยู่เสมอเนื่องจากโรคทริสเตซา เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ซึ่งไม่มีสารเคมีป้องกันกำจัดโรคได้ ถ้าหากส้มเป็นโรคนี้แล้วควรตัดทิ้งและเผาทำลายเพื่อลดปริมาณและการระบาดของโรค

2.3 โรคกรีนนิง

เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุในกลุ่มของเชื้อแบคทีเรีย ในประเทศไทยมักเรียกโรคนี้ว่า โรคใบเหลืองต้นโทรม หรือชาวสวนบางท่านอาจเรียกว่าโรคใบแก้วซึ่งเป็นการเรียกเพราะเข้าใจผิดเนื่องจากอาการของโรคกรีนนิงคล้ายกับอาการขาดธาตุพวุกจุลธาตุ

ลักษณะอาการของโรค

ใบส้มโอที่เป็นโรคนี้มีสีเหลืองจนถึงเหลืองซีดเส้นกลางใบและเส้นแขนงมีสีเขียว บางครั้งพบว่าใบมีจุดสีเหลืองเป็นแต้มๆหรือจำกระจายไปทั่วบนใบ ส่วนมากพบกับใบอ่อนส้มที่เป็นโรคนี้นาตของใบจะเล็กและหนากว่าปกติ และปลายใบตั้งชี้ขึ้นถ้าหากเป็นโรครุนแรงใบแก่จะโค้งงอ ผิดปกติ กิ่งและข้อสั้นกว่าปกติ แตกกิ่งมากขนาดผลเล็กเมล็ดลีบ ผลมักร่วงก่อนแก่ และจะพบกิ่งแห้งตายจากส่วนปลายยอดแล้วลุกลามไปทั่วต้น

การป้องกันกำจัด

ตัดแต่งกิ่งที่เป็นโรคเผาทำลาย เพื่อลดปริมาณของเชื้อโรคถ้าหากเป็นโรคกรีนนิงรุนแรง ให้ขุด ถอน และเผาทำลายเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคใช้สารเคมีกำจัดแมลงพาหะนำโรค คือเพลี้ยกระโดดส้ม หรือ เพลี้ยไก่แจ้

2.4 โรครากเน่าโคนเน่า

โรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอเป็นโรคที่มีความสำคัญและสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตส้มโอเป็นจำนวนมาก โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *P. palmivora* เป็นสาเหตุของโรคได้เช่นเดียวกัน เชื้อราสาเหตุโรคนี้สามารถพักตัวอยู่ในดินแพร่ระบาดโดยการปล่อยสปอร์กระจายไปตามน้ำที่อยู่ตามช่องว่างในดิน เข้าทำลายส่วนของรากหรือลำต้นพืชที่อยู่ในหรือใกล้ระดับดิน ทำให้เกิดลักษณะอาการเน่าของเนื้อเยื่อของราก ลำต้นมียางไหลและเข้าทำลายส่วนของต้นที่อยู่เหนือดินได้

ลักษณะอาการ

ลำต้นระดับโคนมีลักษณะเป็นจุดฉ่ำน้ำ มียางไหลซึมสีครีมหรือน้ำตาลเนื้อไม้บริเวณที่เป็นโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ระยะนี้ต้นส้มแสดงอาการใบเหลืองร่วงใบร่วงมาก กิ่งตาย และเมื่อโคนเน่ารอบต้นจะยืนแห้งตาย ต้องโค่นทิ้งในสภาพที่มีฝนตกชุก ลมฝนแรง หรือเขตรมรสุม เชื้อราจะถูกพัดพาไปทำลายดอก ใบ และผลส้มทำให้ดอกส้มเน่าสีน้ำตาลเหี่ยวแห้งตายใบส้มมีจุดกลม สีน้ำตาลเนื้อเยื่อเน่าลุกลามทำให้ใบร่วงและผลส้มจะเน่าเป็นจุดสีน้ำตาล แผลลุกลามขยายวงกว้าง ผลร่วงหล่น

มากและพบเชื้อราสร้างสปอร์เป็นคราบขาวที่ผลส้มบนพื้นดินผลส้มเป็นโรคเน่าหลังเก็บเกี่ยวเนื่องจากโรคนี้ด้วย

การป้องกันกำจัด

ใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคก่อนเพาะเมล็ดพันธุ์ควรแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทาโคนตันด้วยสารคอบเปอร์ออกไซด์คลอไรด์หรือสารชนิดดูดซึมที่ได้ผลกับราชนิดนี้ เช่น เมธาแลกซิลและฟอสเซทิลอะลูมิเนียม เป็นต้น ต้นที่เป็นโรคควรรีบตัดแต่งหากเนื้อเยื่อที่เป็นโรคออกและทาด้วยสารชนิดดูดซึมให้ทั่วถึงและฉีดลำต้นด้วยสารเมธาแลกซิล ผสมกับแมนโคเซบหรือฟอสเซทิลอะลูมิเนียม และนำต้นที่เป็นโรคเผาทำลาย

3. การควบคุมโรคของส้มโอ

3.1 การควบคุมโรคโดยสารเคมี

การใช้สารเคมีควบคุมโรคของส้มโอเป็นวิธีการที่ได้ผลรวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีเป็นเพียงการแก้ปัญหาเฉพาะหน้าเท่านั้น นอกจากนี้การใช้สารเคมีในปริมาณที่มากเกินไปยังทำลายสภาพแวดล้อม เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาการต้านทานสารเคมีของเชื้อสาเหตุโรคอีกด้วย ปัจจุบันมีการผลิตสารเคมีประเภทดูดซึมชนิดที่ใช้เฉพาะเชื้อราขึ้นดำในกลุ่มของ *Phycomycetes* ขึ้นมาหลายชนิด เช่น เมทาแลกซิล (metalaxyl) ฟอสเซทิลอะลูมิเนียม (phosethyl aluminum) เบนนาแลกซิล (benalaxyl) อ็อกซาไดซิล (oxadixyl) และโอฟูเรส (ofurace) เป็นต้น การรักษาทำโดยใช้มีดหรือสิ่วคมๆ ถากเปลือกบริเวณเป็นโรคออก แล้วทาบริเวณเกิดโรคด้วยสารเคมี หรือการฉีดพ่นบริเวณโคนต้น โดยเกษตรกรควรปฏิบัติตามคำแนะนำในฉลากอย่างเคร่งครัด (บรรณ, 2542)

3.2 การควบคุมโรคโดยชีววิธี

การแสวงหามาตรการและวิธีการควบคุมโรคพืชโดยไม่ต้องใช้สารเคมีเป็นเรื่องที่มีความสำคัญ ซึ่งเรียกว่าการควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพหรือชีววิธี (biological control หรือ biocontrol) ซึ่งเป็นวิธีการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่พบในธรรมชาติมาใช้ควบคุมโรคพืช จากการศึกษาพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในธรรมชาติหลายชนิด เช่น *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Chetomium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Candida* spp. เป็นต้น (จิระเดช, 2546) สามารถควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด เช่น โรครากเน่าโคนเน่าของส้มและทุเรียน โรคเน่าระดับดินของพืชผัก โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง โรคเหี่ยวของพืชผัก โรคโคนเน่าของพืชผัก โรคแอนแทรคโนสของพริกและมะม่วง โรคใบจุดของพืชผัก ตลอดจนโรคหลังการเก็บเกี่ยวต่างๆ นอกจากนี้

ความสามารถในการควบคุมโรคพืชแล้วยังพบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และชักนำให้ต้นพืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชได้อีกด้วย (Harman, 2000; Shivanna et al., 1996; Hyakumachi, 1994) เชื้อจุลินทรีย์มีกลไกมากมายในการเข้าทำลายเชื้อโรคพืชไม่ว่าจะเป็น การเป็นเชื้อปรสิต การสร้างสารปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์มาย่อยและทำลายผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืช การแข่งขันในส่วนของปัจจัยในการดำรงชีวิต การสร้างสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และการชักนำให้ต้นพืชต้านทานต่อเชื้อโรคพืช เป็นต้น (จิระเดช, 2549; Anju, 1994; Harman, 2000; Intana, 2003; Howell, 2003; Ghisalberti and Sivasithamparam, 1991)

มีหลายรายงานที่กล่าวถึงความสำเร็จในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพืชตระกูลส้มโดยชีววิธีทั้งในสภาพโรงเรือนปลูกพืชและสภาพแปลงปลูกพืช เช่นรายงานของ รวี และคณะ (2534) ที่ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินและส่วนของรากส้มก่อนนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหาร potato dextrose agar และพบว่าเชื้อ *Trichoderma* sp. (Ps-2), *Penicillium* sp. (P-10), *Aspergillus* sp. (A-4), *Bacillus* sp. (B-03) และ *Pseudomonas* sp. (Ps-2) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังมีรายงานความสำเร็จในการนำเชื้อ *Trichoderma* spp. และ *Bacillus* sp. มาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* โดยสามารถลดปริมาณของเชื้อราโรคพืชได้แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม (อมรรัชฎ์ และคณะ, 2543; สุณีรัตน์ และคณะ, 2540) ยิ่งกว่านั้นมียางานการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท CB-PIN-01 เมื่อใช้ร่วมกับสารเคมี metalaxyl เข้มข้น 2,500 ppm พบว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวาน (อำไพวรรณ และคณะ, 2538)

4. จุลินทรีย์ท้องถิ่น

4.1 ข้อมูลทั่วไป

เชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่น (Indigenous microorganisms, IMOs) คือจุลินทรีย์ดั้งเดิมในท้องถิ่นที่อาศัยอยู่เป็นเวลานานจนสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ จุลินทรีย์เหล่านี้มีพัฒนาการเพื่อการอยู่รอดและปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเป็นเวลานานแล้ว เมื่อนำมาอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความเหมาะสมทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงขึ้น (อานันท์, 2547) การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นสามารถทำได้โดยการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินหรือใบไม้ในพื้นที่ป่าเนื่องจากพื้นที่ป่าไม่มีความอุดมสมบูรณ์สูงเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลาย นอกจากนี้สามารถคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นจากพื้นที่อื่นๆ เช่น พื้นที่การเกษตร หรือพื้นที่ที่ไม่เหมาะสมต่อ

การปลูกพืช เช่น พื้นที่แห้งแล้ง ดินเค็ม และดินกรด เป็นต้น มีรายงานการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์ในท้องถิ่นหลายรายงานทั้งในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และการควบคุมโรคพืช ดังเช่น เลขา และคณะ (2549) ทำการเก็บตัวอย่างซากใบพืช ก่อนทำการแยกและคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ *Myrothecium verrucaria* และ *Ciliochorella* sp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราโรคพืชหลายชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata*, *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium oxysporum* ในห้องปฏิบัติการได้ ในปี 2006 Bleve และคณะ ได้ทำการแยกเชื้อยีสต์ท้องถิ่นจากผลองุ่นทั้งหมดจำนวน 144 ไอโซเลท ก่อนนำไปคัดเลือกไอโซเลทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Aspergillus carbonarius* และ *A. niger* สาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลองุ่นจนพบว่าเชื้อยีสต์จำนวน 6 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคดังกล่าว นอกจากนี้ Suarez-Estrella และคณะ (2007) ยังทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นจากพื้นที่การเกษตรได้ 493 ไอโซเลท ก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของเมลอนในระดับห้องปฏิบัติการ และในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลอง จนสามารถคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคจำนวน 10 ไอโซเลท ยิ่งกว่านั้น Marulanda และคณะ (2009) ยังรายงานถึงการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียท้องถิ่นที่แยกได้จากดินที่มีความแห้งแล้งสูง ได้แก่ *Pseudomonas putida* และ *Bacillus megaterium* ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้น *Trifolium repens* ภายใต้สภาพดินแห้งแล้งได้ ทำให้พืชมีน้ำหนักของต้นและรากเพิ่มขึ้น โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. putida* สามารถสร้างสาร indol acetic acid (IAA) ที่สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างรากเพิ่มขึ้นทำให้พืชต้านทานต่อความแล้งเพิ่มขึ้นด้วย

สำหรับในประเทศไทย Intana และ Chamswang (2007) กล่าวว่าสามารถคัดเลือกเชื้อรา *T. virens* จากดินปลูกคะน้าในจังหวัดนครศรีธรรมราชจำนวน 7 สายพันธุ์ ซึ่งทุกสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตและคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าระดับดินของคะน้าในระดับห้องปฏิบัติการ และในปี 2008 Intana และคณะ ยังสามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 4 สายพันธุ์ จากผิวใบเงาะซึ่งทุกสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระดับ 48.0-56.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ

4.2 ข้อได้เปรียบของเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่น

จากรายงานต่างๆ พบว่าสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดชนิดและปริมาณของสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ รวมทั้งจุลินทรีย์ โดยเฉพาะในส่วนของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และมีความผันแปรได้ง่ายตามสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น pH ความชื้น แสง อุณหภูมิ และธาตุอาหารในดิน (Blaekman and Willianson, 1994) ดังนั้นจึงพบว่าจุลินทรีย์ในแต่ละพื้นที่มี

ความหลากหลายทางชีวภาพมากและมีความต้องการทางสภาพแวดล้อมที่ต่างกันด้วย แม้อยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกันก็ตาม บางชนิดแม้มีการจำแนกเป็นจุลินทรีย์สปีชีส์เดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กันอาจมีความแตกต่างกันในหลายด้าน เช่น *T. harzianum* ที่แยกได้ในแต่ละแหล่งมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคพืชแตกต่างกัน (Intana, 2003) ในรายงานของ Worasatit และคณะ (1994) พบว่า *T. koningii* แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างสารต่อต้านเชื้อราโรคพืชได้ในปริมาณที่ต่างกัน ในปี 2547 มีรายงานว่าเมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. สายพันธุ์การค้าที่แยกได้จากพื้นที่ภาคอื่นมาใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวและมะเขือเทศในภาคใต้ พบว่าประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ลดลงมาก รวมทั้งการอยู่รอดและการเพิ่มปริมาณในดินที่มีความชื้นสูง (เพชรพิกุล และอรรรถกร, 2547) นอกจากนี้ ศิริลักษณ์และสิริมาส (2547) ยังรายงานว่าเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ในภาคกลางและผ่านการทดสอบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสมาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในภาคใต้พบว่าประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวลดลงกว่าที่ได้รายงานไว้ มากกว่านั้นในปี 2000 Enkhtuya และคณะ คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นจากดินในพื้นที่ที่มีความเสื่อมโทรมก่อนนำไปทดสอบพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด และครอบครองรากข้าวโพดได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแหล่งอื่นๆ ซึ่งตรงกับการรายงานของอานัฐ (2547) ที่กล่าวว่าจุลินทรีย์ท้องถิ่นจะไม่สามารถมีชีวิตรอดในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีเท่าจุลินทรีย์ท้องถิ่น ทั้งยังถูกทำลายได้ง่ายกว่าจุลินทรีย์ท้องถิ่น และอาจทำให้เสียสมดุลทางธรรมชาติด้วย

สภาพแวดล้อมพื้นที่ภาคใต้มีความแตกต่างจากพื้นที่อื่นของประเทศไทย โดยเฉพาะในด้านความชื้น เพราะเป็นพื้นที่ที่มีฝนตกชุกมากกว่าภาคอื่นๆ ทำให้ความชื้นในดินมีสูงนอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีฤดูหนาว ดังนั้นจุลินทรีย์ที่อยู่ในภาคใต้อย่อมมีความแตกต่างด้านชีวภาพจากจุลินทรีย์ในแหล่งอื่นทำให้การนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่แยกได้จากพื้นที่อื่นอาจไม่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชหรือใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ในภาคใต้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ท้องถิ่นที่ผ่านการคัดเลือกจากพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชมาใช้ประโยชน์ในการเกษตรจึงเป็นเรื่องที่จำเป็นอย่างยิ่งซึ่งจะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรต่อไป

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

1. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (ทำเพิ่มเติมนอกเหนือจากข้อเสนอโครงการวิจัย)

1.1 ทดสอบความรุนแรงในการก่อโรคกับใบส้มโอเบื้องต้น

ในการวิจัยครั้งนี้คณะวิจัยได้รับความอนุเคราะห์เชื้อราโรคพืช *Phytophthora* spp. จำนวน 2 สปีชีส์ จาก 2 หน่วยงานวิชาการ นั่นคือ 1) เชื้อรา *P. parasitica* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ และ 2) เชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากคลินิกสุขภาพพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

การทดสอบความรุนแรงในการก่อโรคใช้วิธี detached leaf (Intana, 2003) ด้วยการเลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* และ *P. parasitica* บนอาหาร carrot agar (CA) ที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน ก่อนใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใย แล้วนำมาวางบนใบส้มโอพันธุ์ขาวทองดีที่ผ่านการทำความสะอาดและทำแผลด้วยเข็มเย็บปลายแหลมจำนวน 2 แผลต่อใบ จากนั้นหุ้มก้านใบส้มโอด้วยสำลีชื้นพร้อมทั้งเก็บใบส้มโอดังกล่าวในกล่องพลาสติกชั้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ทำการตรวจสอบความรุนแรงในการก่อโรคด้วยการวัดรัศมีของแผลที่ปรากฏบนใบส้มโอทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่วางชิ้นอาหาร CA ที่ปราศจากเชื้อราโรคพืช ก่อนคัดเลือกเชื้อราโรคพืชสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุดไว้ใช้ในการทดลองต่อไป สำหรับสูตรคำนวณความรุนแรงในการก่อโรค คือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงในการก่อโรค} = [(D_T - D_C) / D_T] \times 100$$

เมื่อ

D_T คือ ค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีของแผลบนใบส้มโอในกรรมวิธีที่วางเชื้อราโรคพืช (เซนติเมตร)

D_C คือ ค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีของแผลบนใบส้มโอในกรรมวิธีควบคุมที่วางเฉพาะชิ้นวุ้นเปล่า (เซนติเมตร)

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการยับยั้งเชื้อรา โรคพืช

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ 1. สายพันธุ์ T-NST-01 ที่เป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นที่แยกได้จากดินบนเทือกเขาหลวง จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งผ่านการคัดเลือกในเบื้องต้นว่ามีประสิทธิภาพสูงมากในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและ 2. สายพันธุ์ CB-Pin-01 ซึ่งเป็นสายพันธุ์การค้าในประเทศไทยปัจจุบัน ซึ่งผ่านการรับรองว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชหลายชนิด (จิระเดช, 2549)

การทดสอบใช้วิธี dual culture test (บรรเจิดและจิระเดช, 2529) โดยการนำเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *P. palmivora* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และ CA ตามลำดับ เป็นเวลา 3 วัน ก่อนใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* และนำมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยห่างจากขอบจาน 1.5 เซนติเมตร เก็บจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จากนั้น 48 ชั่วโมง วางชิ้นส่วนของเชื้อรา *T. harzianum* โดยวางตรงข้ามและห่างกันกับเชื้อรา *P. palmivora* เป็นระยะ 6 เซนติเมตร บ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 วัน ก่อนวัดความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราโรคพืชในจานทดสอบและจานควบคุม (เชื้อราโรคพืชเจริญโดยไม่มีเชื้อรา *T. harzianum*) จากนั้นนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืช (percent inhibition of radial growth-PIRG) และเปอร์เซ็นต์การคลุมทับเส้นใยดังนี้

$$\text{PIRG} = [(R_c - R_T) / R_c] \times 100$$

เมื่อ

R_c คือ ค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *P. palmivora* ในจานเลี้ยงเชื้อควบคุม (เซนติเมตร)

R_T คือ ค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *P. palmivora* ในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ (เซนติเมตร)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การคลุมทับเส้นใยคำนวณดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การคลุมทับเส้นใย} = [(C_1 - C_2) / T] \times 100$$

เมื่อ

C_1 คือ ค่าเฉลี่ยรัศมีของเชื้อรา *T. harzianum* ที่คลุมทับเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ในวันที่ทำการศึกษา (เซนติเมตร)

C_2 คือ ค่าเฉลี่ยรัศมีของเชื้อรา *T. harzianum* ที่คลุมทับเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ในวันก่อนทำการศึกษา (เซนติเมตร)

T คือ ช่วงระยะเวลาที่ใช้ศึกษา (วัน)

1.3 ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช

ในข้อเสนอโครงการวิจัยเดิมได้เขียนว่าใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* สายพันธุ์ B-NST-01 เนื่องจากตอนส่งข้อเสนอโครงการวิจัยคณะวิจัยวางแผนจะใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ แต่ระหว่างนั้นคณะวิจัยได้ค้นพบเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 จึงได้นำมาทดสอบด้วยและเมื่อศึกษาในเบื้องต้นพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* สายพันธุ์ B-NST-01 มีประสิทธิภาพต่ำกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 คณะวิจัยจึงมีการเปลี่ยนสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะดังกล่าวเพื่อให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์และผลการทดลองมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 นี้เป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นที่ค้นพบโดย ศุภลักษณ์ (2552)

ส่วนในการทดสอบทำโดยวิธี dual culture test (บรรเจิดและจิระเดช, 2529) ด้วยการเลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA เป็นเวลา 3 วัน ก่อนเจาะเส้นใยเชื้อราโรคพืชด้วย cork borer และนำไปวางที่จุดศูนย์กลางของจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นปลูกเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด โดยใช้เข็มเขี่ยแตะเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่กำลังเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาขีดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อรา *P. palmivora* เจริญอยู่ ซึ่งขีดเป็นระยะ 1 เซนติเมตร จำนวน 4 จุดตรงข้ามกันในแนวกากบาท โดยขีดห่างจากเชื้อราโรคพืชเป็นระยะ 1 เซนติเมตร จากนั้นบ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนทำการวัดรัศมีเส้นใยเชื้อราโรคพืชที่เจริญออกมาจากจุดศูนย์กลาง พร้อมทั้งตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียทดสอบในการสร้าง clear zone เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบผลการวิจัยต่อไป

2. การทดสอบในระดับโรงเรียน

2.1 การเตรียมกิ่งตอนส้มโอ

เดิมคณะวิจัยได้นำเสนอโครงร่างงานวิจัยโดยจะทำการทดลองที่ใช้ต้นกล้าส้มโอพันธุ์ขาวทองดี ซึ่งคณะวิจัยได้ทำการเพาะเมล็ดจนได้ต้นกล้าตามแผนการทดลองที่วางไว้และได้ดำเนินการทดลองในระดับโรงเรียนปลูกพืชทดลองแล้ว แต่ในระหว่างดำเนินการทดลองได้เกิดอุทกภัยครั้งใหญ่ในภาคใต้ (เดือนเมษายน 2554) ส่งผลให้น้ำท่วมหนักทั้งมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์รวมทั้งโรงเรียนที่ทำ

การทดลองด้วย ทำให้คณะวิจัยไม่สามารถเก็บข้อมูลผลการทดลองดังกล่าวต่อไปได้ คณะวิจัยจึงต้องวางแผนการทดลองใหม่ โดยพยายามหาเมล็ดส้มโอพันธุ์ขาวทองดีชุดใหม่มาเพาะ แต่ปรากฏว่าไม่สามารถหาได้เพราะไม่อยู่ในช่วงส้มโอให้ผลผลิต เกษตรกรจึงไม่มีเมล็ดพันธุ์สำรอง (ที่เกษตรกรมีเมล็ดพันธุ์น้อยเนื่องจากเกษตรกรขยายพันธุ์ส้มโอโดยวิธีตอนกิ่ง) ซึ่งส้มโอในอำเภอปากพนังจะให้ผลผลิตในช่วงเดือนตุลาคมของทุกปี (เดือนตุลาคม 2554) เพื่อให้งานวิจัยดำเนินการต่อไปได้และมีความแน่นอนมากที่สุดดังนั้นคณะวิจัยจึงตัดสินใจเปลี่ยนมาใช้กิ่งตอนแทนการใช้ต้นกล้า ซึ่งได้คาดการณ์ว่าจะดำเนินการทดลองได้เร็วกว่าการใช้ต้นกล้า (เพราะต้นกล้าต้องรอเมล็ดพันธุ์ซึ่งต้องพักตัวนานและยังต้องใช้เวลาอย่างน้อย 3 เดือน ในการเพาะต้นกล้า) แต่เมื่อคณะวิจัยไปสำรวจกิ่งตอนส้มโอพันธุ์ขาวทองดีที่มีขายทั่วไปปรากฏว่ามีจำนวนกิ่งตอนน้อยจนไม่เพียงพอต่อการทดลองและไม่มีคุณภาพตามการทดลองที่วางไว้ คณะวิจัยจึงจำเป็นต้องติดต่อสวนเกษตรกรที่ตอนกิ่งส้มโอขายโดยเฉพาะ เพื่อให้ตอนกิ่งที่มีคุณภาพและได้จำนวนตามต้องการ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องอาศัยระยะเวลาเช่นกันเพราะสวนส้มโอดังกล่าวก็ประสบปัญหาน้ำท่วมทำให้เกษตรกรไม่สามารถตอนกิ่งส้มโอได้ในทันที ต้องรอให้น้ำลดระดับและพักต้นส้มโอดังกล่าวอย่างน้อย 4 เดือน ก่อนลงมือตอนกิ่งได้ (พักต้นส้มโอในช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายน 2554) หลังจากทำการตอนกิ่งจำเป็นต้องรอเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน เพื่อให้ได้กิ่งตอนที่มีจำนวนรากมาก มีสภาพพร้อมและเหมาะสมต่อการทดลองจึงทำให้คณะวิจัยได้กิ่งตอนส้มโอล่าช้ามากนั้นคือได้กิ่งตอนในปลายเดือนมกราคม 2555

2.2 การเตรียมเชื้อราโรคพืช *Phytophthora palmivora*

นำเชื้อรา *P. palmivora* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ก่อนเจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นวุ้นดังกล่าวจำนวน 20 ชิ้น ไปเลี้ยงในถุงที่บรรจุอาหาร oat meal sand (OMS) ปริมาณ 1 กิโลกรัม โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องในสภาวะมืดเป็นเวลา 12 วัน ก่อนนำเชื้อราโรคพืชที่ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 2 ชนิด คือเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณตามวิธีการที่เหมาะสม นั่นคือ เชื้อรา *T. harzianum* เลี้ยงตามวิธีการของ จิระเดช และวรรณวิไล (2545) ด้วยการหุงปลายข้าวสารให้สุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า (อัตราข้าว 3 ส่วนต่อน้ำ 2 ส่วน) ตักปลายข้าวที่สุกแล้วขณะข้าวยังร้อนใส่ในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 8x12 นิ้ว (ปริมาณ 250 กรัมต่อถุง) กดข้าวเบาๆ ให้แบนและรอให้ข้าวอุ่นหรือเกือบเย็น จึงดูดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* (ความเข้มข้น

1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในถุงข้าวพร้อมมัดยางตรงปากถุงให้แน่น ก่อนเขย่าหรือบีบข้าวเบาๆ และเจาะถุงพลาสติกด้วยเข็มหมุดบริเวณปากถุงที่มัดยางไว้จำนวน 2 รู ต่อถุง วางถุงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบ 2 วัน บีบย่ำก้อนข้าวที่มีเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* เจริญอยู่ให้แตก แล้ววางถุงในที่เดิมต่ออีก 4 วัน จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาล้างด้วยน้ำสะอาดพร้อมทั้ง กรองแยกเมล็ดข้าวออกให้ได้เป็นสปอร์แขวนลอยพร้อมทำการปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอย ให้ได้ที่มีความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ขยายปริมาณโดยนำมาเลี้ยงในอาหาร NA ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำเซลล์เชื้อแบคทีเรียที่ได้มาทำเซลล์แขวนลอยเข้มข้นพร้อมทั้ง นำไปผสมกับสารพา จากนั้นผึ่งผึ่งเชื้อในที่ร่มที่อุณหภูมิห้องให้ผึ่งเชื้อมีความชื้นประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาร้อนผ่านตะแกรงจนได้ผึ่งเชื้อแบคทีเรียที่ละเอียด พร้อมตรวจนับปริมาณเชื้อ แบคทีเรียปฏิบัฏที่มีชีวิตรอด นำผึ่งเชื้อแบคทีเรียไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ก่อน นำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัฏในการควบคุมโรค

นำเชื้อรา *P. palmivora* ที่เจริญบนอาหาร OMS มาผสมกับดินปลูกในอัตราส่วน 1:4 โดยปริมาตร ก่อนนำไปใส่ในกระถางปลูกพืชที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 นิ้ว จากนั้นทำการปลูกกิ่ง ตอนส้มโอ พร้อมทั้งเก็บกระถางในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง เป็นเวลา 14 วัน ใส่เชื้อราปฏิบัฏใน ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง (เชื้อรา *T. harzianum* มีความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อ มิลลิลิตร) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ใส่ปริมาณ 10 กรัมต่อกระถาง (ความเข้มข้น 5.03×10^{12} เซลล์ต่อผึ่งเชื้อ 1 กรัม) โดยทำการทดสอบเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี metalaxyl ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ร่วมกับผงแคลเซียมทำโดยโรย ผงแคลเซียม อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) กรรมวิธีละ 6 ซ้ำๆ ละ 1 กระถาง ซึ่งรายละเอียดของกรรมวิธีทดสอบมีดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 ควบคุม 1 ใส่เชื้อราโรคพืช

กรรมวิธีที่ 2 ควบคุม 2 ไม่ใส่เชื้อราโรคพืช

กรรมวิธีที่ 3 *B. subtilis* B-261 อย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 4 *B. subtilis* B-261+ผงแคลเซียม

กรรมวิธีที่ 5 *T. harzianum* T-NST-01 อย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 6 *T. harzianum* T-NST-01+ผงแคลเซียม

กรรมวิธีที่ 7 ผงแคลเซียมอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 8 สารเคมี metalaxyl

ทำการตรวจสอบความสมบูรณ์ของกิ่งตอนส้มโอทุกเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยแบ่งระดับความสมบูรณ์ของกิ่งตอนส้มโอออกเป็น 5 ระดับดังนี้

ระดับที่ 5 = ต้นสมบูรณ์ไม่มีอาการของโรค

ระดับที่ 4 = ใบบางใบเหลืองซีดแต่ไม่พบอาการใบร่วง

ระดับที่ 3 = ใบมีอาการเหลืองซีดชัดเจน และพบใบร่วง 1-2 ใบ

ระดับที่ 2 = ใบเหลืองซีดชัดเจน และพบใบร่วงมากกว่า 2 ใบ แต่ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์

ของใบทั้งหมด

ระดับที่ 1 = อาการโรครุนแรง ใบร่วงมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ของใบทั้งหมดหรือต้นส้มโอตาย

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราโรคพืช

ในระหว่างการทดลองข้อ 2.4 ทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทุก 2 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยใช้วิธีการ soil dilution plate technique (Intana, 2003) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อที่มีความเหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มนั้นคือใช้อาหาร PDA ที่เติม streptomycin และ rose bengal (PDASR) สำหรับตรวจปริมาณเชื้อรา และใช้อาหาร NA สำหรับตรวจปริมาณเชื้อ แบคทีเรีย พร้อมทั้งบันทึกจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบตามลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหาร ดังกล่าวโดยแยกเป็นเชื้อราทั่วไป เชื้อรา *T. harzianum* เชื้อแบคทีเรียทั่วไป และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ก่อนนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม 1 ที่ใส่เฉพาะเชื้อราโรคพืชโดยไม่ใส่ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ รวมทั้งกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี metalaxyl

2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอ

ในระหว่างการทดลองข้อ 2.4 ทำการเก็บข้อมูลและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการเจริญเติบโตเข้าครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอทุก 2 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน ด้วยการเก็บตัวอย่างรากฝอยของกิ่งตอนส้มโอมาตัดให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ก่อน นำตัวอย่างรากจำนวน 10 ชิ้น ไปผสมกับน้ำนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร พร้อมเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ซับตัวอย่างรากส้มโอให้แห้งก่อนนำไปวางบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติม streptomycin เป็นเวลา 3 วัน สำหรับตรวจเชื้อรา *T. harzianum* และอาหาร NA เป็นเวลา 2 วัน สำหรับตรวจเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จากนั้นบันทึกประสิทธิภาพของ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอ โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ควบคุมโรค โดยใช้สารเคมี metalaxyl และกรรมวิธีควบคุม 1 ที่ใส่เฉพาะเชื้อราโรคพืชโดยไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ ปฏิปักษ์ ก่อนนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของเชื้อจุลินทรีย์ในการครอบครองรากของกิ่งตอนส้มโอ โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การครอบครองราก} = (C_1/C_2) \times 100$$

เมื่อ

C_1 คือ ค่าเฉลี่ยรากที่ถูกเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดครอบครอง

C_2 คือ จำนวนรากทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง

3. การควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูก

เมื่อทราบแนวโน้มของผลการทดลองในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองแล้ว (หลังทำการทดลองในระดับโรงเรือนเป็นเวลา 4 เดือน) เลือกวิธีการที่มีแนวโน้มว่าดีและเหมาะสมในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของส้มโอมาศึกษาต่อในระดับแปลงปลูกพืชของเกษตรกร โดยทำการทดสอบที่แปลงส้มโอของคุณสัญญา แสงวิมาน หมู่บ้านแสงวิมาน อำเภopakpang จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยการนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ความเข้มข้น 1.0×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เนื่องจากต้องใช้เชื้อราปริมาณมากจึงไม่สามารถเตรียมที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรได้จึงใช้อัตราที่นิยมฉีดพ่นในสวนเกษตรกรจริง ไปฉีดพ่นในสวนส้มโอในอัตรา 20 ลิตรต่อต้น โดยฉีดทั้งบนต้นและดินบริเวณใต้ทรงพุ่มส้มโอ ส่วนผงแคลเซียมนำไปโรยบริเวณใต้ทรงพุ่มในอัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น จากนั้นทุก 2 เดือน ทำการตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดิน (เชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อรา *Phytophthora* sp.) และตรวจการครอบครองรากของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการตรวจสอบเป็นเวลา 6 เดือน ทำการทดลองกรรมวิธีละ 6 ต้น ซึ่งมีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ควบคุมไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* และผงแคลเซียม

กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นเชื้อรา *T. harzianum*+ ผงแคลเซียม

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ผงแคลเซียมอย่างเดียว

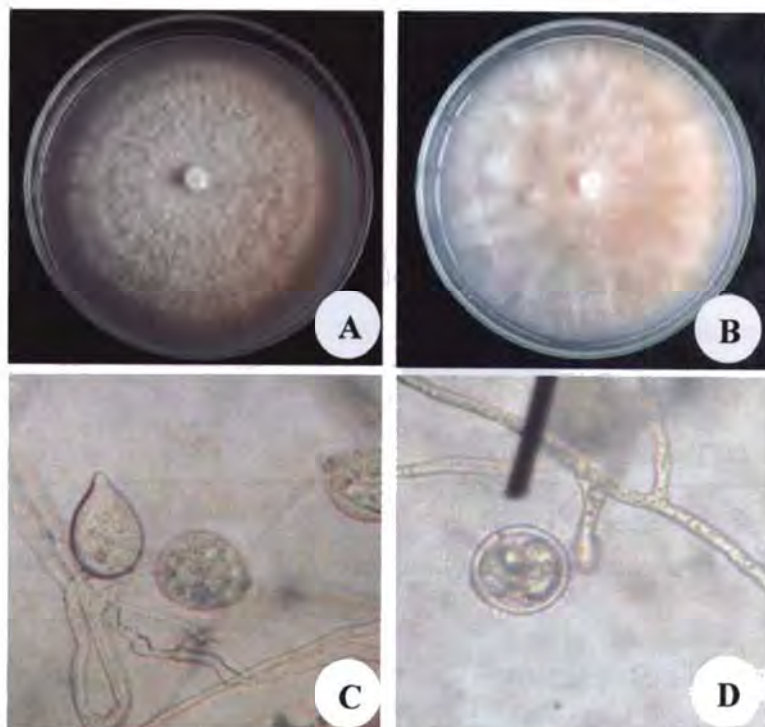
บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (ทำเพิ่มเติมนอกเหนือจากข้อเสนอโครงการวิจัย)

1.1 ทดสอบความรุนแรงในการก่อโรครากับใบส้มโอเบื้องต้น

จากการทดสอบพบว่าเชื้อราโรคพืชทั้ง 2 สปีชีส์ สามารถก่อโรคบนใบส้มโอได้ โดยมีความรุนแรงในการก่อโรคต่างกัันนั้นคือ เชื้อรา *P. palmivora* และเชื้อรา *P. parasitica* สามารถก่อโรคบนใบส้มโอที่ระดับ 80.00 และ 60.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่วางด้วยชั้นวุ้นที่ปราศจากเชื้อราโรคพืช จากผลการทดลองนี้คณะวิจัยจึงคัดเลือกเชื้อรา *P. palmivora* ไว้ใช้ในการทดลองต่อไป เพราะมีความรุนแรงในการก่อโรคสูงกว่า



ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อรา *Phytophthora* spp. เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ carrot agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (A) เชื้อรา *Phytophthora parasitica* (B) เชื้อรา *Phytophthora palmivora* (C) ลักษณะ Sporangium และ (D) ลักษณะ Chlamydospore เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้ โดยเฉพาะสายพันธุ์ T-NST-01 ที่พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* สูงกว่าเชื้อราสายพันธุ์การค้า *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 79.77 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์การค้าสามารถยับยั้งได้ที่ 73.37 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2)

ส่วนด้านประสิทธิภาพในการคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 มีประสิทธิภาพในการคลุมทับสูงกว่าสายพันธุ์การค้า *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยพบอัตราการคลุมทับโดยเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ 1.08 และ 1.04 เซนติเมตร ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

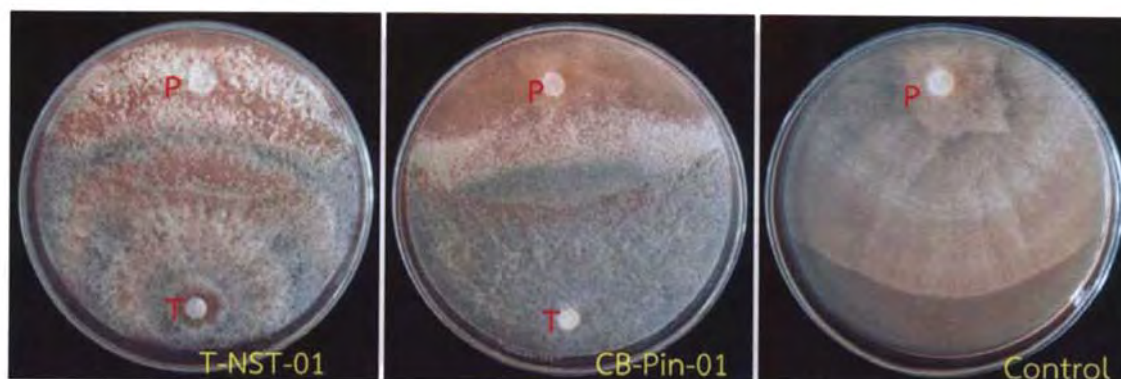
ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในการยับยั้งการเจริญและคลุมทับเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* เมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

สายพันธุ์	ประสิทธิภาพการยับยั้งและคลุมทับเชื้อราโรคพืช	
	การยับยั้ง ^{1/}	การคลุมทับ ^{2/}
<i>Trichoderma harzianum</i>	(%)	(เซนติเมตร/วัน)
T-NST-01 ^{1/}	79.77 a ^{3/}	1.08 a
CB-Pin-01	73.37 b	1.04 a

^{1/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช = $[(R_C - R_T) / R_C] \times 100$ เมื่อ R_C คือค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อราโรคพืชในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเชื้อรา *T. harzianum* และ R_T คือค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อราโรคพืชในจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อรา *T. harzianum*

^{2/} อัตราการคลุมทับเส้นใยเชื้อราโรคพืช = $(C_1 - C_2) / T$ เมื่อ C_1 คือค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *T. harzianum* ในวันที่ทำการตรวจผล C_2 คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *T. harzianum* ในวันที่ชนกับเชื้อราโรคพืช และ T คือระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษามีหน่วยเป็นวัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Two-Sample T Test



ภาพที่ 2 ลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 และสายพันธุ์ CB-Pin-01 ในการยับยั้งการเจริญและคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* เมื่อทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (T= *Trichoderma harzianum*, P= *Phytophthora palmivora*)

1.3 ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อราโรคพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืชได้ โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหาร PDA สูงกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* สายพันธุ์ B-NST-01 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-261 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้ที่ 33.82 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *B. pumilus* สายพันธุ์ B-NST-01 สามารถยับยั้งได้ที่ 24.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่วางเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2 ส่วนการตรวจสอบการสร้าง clear zone พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่สร้าง clear zone ในขณะทำการทดสอบ (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* เมื่อทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

เชื้อแบคทีเรีย	ประสิทธิภาพการยับยั้ง ^{1/} (%)
<i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ B-261	33.82 a ^{2/}
<i>B. pumilus</i> สายพันธุ์ B-NST-01	24.16 b

^{1/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช = $[(R_C - R_T) / R_C] \times 100$ เมื่อ R_C คือค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อราโรคพืชในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และ R_T คือค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อราโรคพืชในจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Two-Sample T Test



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar หลังบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน (P=*Phytophthora palmivora*, B-NST-01=*Bacillus pumilus*, B-261=*Bacillus subtilis*)

2. การทดสอบในระดับโรงเรือน

2.1 การเตรียมต้นกล้าส้มโอ

สำหรับเหตุผลการเปลี่ยนแปลงการทดลองจากการใช้ต้นกล้า มาเป็นกิ่งตอน คณะวิจัยได้กล่าวถึงเหตุผลดังรายละเอียดในวิธีวิจัยข้อ 2.1

ซึ่งจากการเตรียมกิ่งตอนส้มโอพันธุ์ขาวทองดีทำให้ได้กิ่งตอนที่มีอายุ 3 เดือน จำนวนทั้งหมด 50 กิ่งตอน ซึ่งแต่ละกิ่งตอนแตกรากอ่อนจำนวนมาก เหมาะแก่การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเป็นอย่างยิ่ง

2.2 การเตรียมเชื้อราโรคพืช *Phytophthora palmivora*

จากการเลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ OMS ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องพบว่าเชื้อราโรคพืชดังกล่าวใช้ระยะเวลา 12 วัน ในการเจริญเติบโตและสร้างเส้นใยสีขาวคลุมทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบเส้นใยของเชื้อราโรคพืชสีขาวมีลักษณะฟูเจริญคลุมทั่วทั้งถาดอาหารเลี้ยงเชื้อ OMS ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ลักษณะเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่เจริญบนอาหาร oat meal sand ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 วัน

2.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สามารถเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-NST-01 บนเมล็ดข้าวสุกได้ โดยเชื้อราดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตคลุมทั่วเมล็ดข้าวและสร้างสปอร์สีเขียวที่อุณหภูมิห้องได้ภายในระยะเวลา 6 วัน (ภาพที่ 5-A) เมื่อนำเมล็ดข้าวดังกล่าวไปล้างเพื่อแยกเอาเฉพาะสปอร์ของเชื้อรา