



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

โครงการ การจัดการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำ และยั่งยืนในจังหวัดเชียงใหม่

โดย ศาสตราจารย์ ดร.ชัยวัฒน์ โตอนันต์ และคณะ
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มกราคม 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การจัดการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำ และยั่งยืนในจังหวัดเชียงใหม่

คณะนักวิจัยและสังกัด

ศาสตราจารย์ ดร. ชัยวัฒน์ โตณันต์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศาสตราจารย์ ดร. โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเฟิร์น คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชดาพรรณ ชีวังกูร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รองศาสตราจารย์ ดร. เกษม สร้อยทอง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวจิตติมา วงษ์วาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เครือข่ายวิจัยพัฒนาและนำใช้เกษตรแม่นยำ ฝ่ายเกษตร สกว.

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ. สพญ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายเกษตร ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ประกอบด้วย อาจารย์พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ และ ศาสตราจารย์ ดร. นิวัฒน์ เสนาะเมือง ที่ได้ช่วยแก้ไข และให้คำแนะนำในระหว่างการทำวิจัยในครั้งนี้จนมีผลลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเกษตรกรที่ร่วมในโครงการที่ได้ให้ความร่วมมือในการทำวิจัย โดยอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลภาคสนาม รวมทั้งเสียสละเวลาเข้าร่วมประชุม ปรึกษาหารือเพื่อแก้ปัญหาการปลูกส้มในพื้นที่อำเภอปรางกร อำเภอฝาง และอำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งข้อมูลที่ได้รับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งแก่โครงการวิจัย อีกทั้งยังให้ความอนุเคราะห์พื้นที่เพาะปลูกส้มเพื่อใช้ในการงานวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ จะกลับไปเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกส้มในจังหวัดเชียงใหม่อย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

คณะผู้วิจัย

บทสรุปผู้บริหาร

ส้มเขียวหวานเริ่มนำมาปลูกในจังหวัดเชียงใหม่เมื่อประมาณกว่า 40 ปีมาแล้ว โดยแหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการ เนื่องจากในเขตพื้นที่ดังกล่าวมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมคือมีอากาศเย็น ทำให้ผิวของผลส้มมีสีเหลืองเข้มสวยงาม มีรสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาดมาก ด้วยเหตุนี้จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกเฉพาะในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการจำนวนมากถึง 5 แสนไร่ โดยที่ในระยะเริ่มแรกเป็นการบุกเบิกพื้นที่ปลูกส้มใหม่ ซึ่งเป็นพื้นที่มีสภาพของดินดี และยังไม่พบปัญหาการสะสมของโรคและแมลง ต่อมาเมื่อมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่างๆ เช่น ปุ๋ยเคมี สารกำจัดศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช แมลง และเชื้อรา อย่างต่อเนื่องและไม่ถูกวิธี จึงก่อให้เกิดปัญหาการสะสมสารเคมีต่างๆ โดยเฉพาะในดินที่ปลูกส้ม เป็นผลทำให้สภาพดินเป็นกรดจัด (pH 3.0-4.5) จึงเกิดการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าคือเชื้อ *Phytophthora parasitica* เข้าทำลายระบบรากส้มโดยระบาดไปทุกพื้นที่ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบโรครินนิ่งส้ม (Citrus Greening หรือ Huanglongbing) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticus* โดยมีเพลี้ยไก่แจ้ (Asian citrus psyllid) เป็นพาหะนำโรค และเชื้อนี้ยังสามารถแพร่โดยติดไปกับกิ่งพันธุ์ และเป็นผลทำให้ต้นส้มทรุดโทรมได้ ประกอบกับผลที่เกิดจากการเพิ่มพื้นที่เพาะปลูกส้มจำนวนมาก ทำให้มีผลผลิตออกสู่ตลาดมากเกินไป ราคาผลผลิตจึงตกต่ำอย่างรุนแรง และส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรเจ้าของสวนส้ม ทำให้เกษตรกรหลายรายต้องเลิกทำการปลูกส้ม และอีกหลายรายที่ปล่อยสวนทิ้งโดยไม่ได้มีการดูแลรักษาต้นส้มอย่างเหมาะสม จึงกลายเป็นแหล่งสะสมโรคและแมลง และเกิดการระบาดของโรคต้นโทรมไปทุกพื้นที่ และแต่ละสวนมีจำนวนต้นส้มที่ต้องตัดทิ้งทันทีเป็นจำนวนมาก ผลที่เกิดขึ้นทำให้จำนวนพื้นที่ปลูกส้มลดลงอย่างต่อเนื่อง จนในปัจจุบันพบว่าเหลือพื้นที่ที่ปลูกส้มในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการเพียงประมาณ 2 หมื่นไร่เท่านั้น

สำหรับเกษตรกรชาวสวนส้มที่เหลืออยู่ได้พยายามหาทางแก้ไขโรคต้นโทรม มุ่งเน้นไปที่รักษาโรครินนิ่งส้ม โดยได้มีการนำเทคนิคการฉีดสารปฏิชีวนะเข้าสู่ต้นส้มจากประเทศไต้หวันมาทดลองใช้ ด้วยการฉีดสาร Tetracycline เข้าลำต้นส้มปีละครั้ง แต่พบว่าสาร Tetracycline ดังกล่าวใช้ไม่ได้ผล เกษตรกรจึงเปลี่ยนมาใช้ Ampicillin ซึ่งมีผลทำให้ต้นส้มฟื้นจากอาการต้นโทรมได้ชั่วคราว กล่าวคือช่วยให้ต้นส้มฟื้นตัวขึ้น โดยสามารถแตกกิ่งก้านที่มีใบใหม่เขียวเข้มและสามารถออกดอกและผลได้ แต่พบว่าอาการฟื้นตัวดังกล่าวจะไม่มียั่งยืน ต้นส้มจะมีการใบเหลืองและโทรมอีกครั้งเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 เดือน ทำให้เกษตรกรต้องฉีดสารดังกล่าวทุกๆ 3 เดือน จึงจะทำให้ได้ผลผลิตส้มออกมาได้ ซึ่งปัจจุบันพบว่าสวนส้มเกือบทุกสวนในจังหวัดเชียงใหม่ มีการใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin ฉีดเข้าต้นส้มทั้งสิ้น

อย่างไรก็ตาม จากการลงพื้นที่สำรวจของคณะผู้วิจัย พบว่าถึงแม้ต้นส้มจะฟื้นตัวเมื่อได้รับสาร Ampicillin เป็นประจำ แต่เมื่อตรวจสอบสภาพของดินที่ปลูกส้ม พบว่าดินยังมีสภาพเป็นกรดสูง (pH = 3.0-4.5) และยังพบอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่ยังพบระบาดอย่างรุนแรง ดังนั้นความเชื่อที่ว่า การฉีดสาร Ampicillin เข้าสู่ต้นส้มเพียงอย่างเดียว เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่งส้ม จึงเป็นการรักษาโรคต้นโทรมที่ไม่ถูกต้อง และไม่สามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นได้

ถาวร เกษตรกรยังคงต้องฉีดสารปฏิชีวนะดังกล่าวทุกๆ 3 เดือน เป็นผลให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายจำนวนมาก และเป็นการใช้สารปฏิชีวนะที่ไม่ถูกต้องวิธี ซึ่งย่อมส่งผลกระทบต่อระบบสาธารณสุขของประชาชนผู้บริโภคผลส้มได้

คณะผู้วิจัยได้พิสูจน์ให้เห็นเป็นที่ประจักษ์ว่า สาเหตุที่ทำให้เกิดอาการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่มี 3 สาเหตุหลัก คือ 1) เกิดจากการใช้สารเคมีในระบบการปลูกส้มอย่างไม่เหมาะสมและไม่ถูกต้องวิธี (ดินมีสภาพเป็นกรดจัด) มีผลทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีดังกล่าว สภาพดินจึงเสื่อมโทรม 2) เมื่อสภาพดินเป็นกรดจัด (pH = 3.0-4.5) จึงเกิดการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราอย่างรุนแรง ทำให้ต้นส้มทรุดโทรมและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคอื่นๆ ที่เข้าทำลายซ้ำเติม 3) พบการระบาดของโรคกรีนนิ่งส้ม ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งทั้งสามสาเหตุก่อให้เกิดการทรุดโทรมอย่างรุนแรง และมีผลทำให้ต้นส้มแห้งตายในที่สุด

จากสาเหตุดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้วาง แนวทางการแก้ปัญหาดังกล่าวที่จะร่วมมือกับเกษตรกรที่สมัครเข้าร่วมในโครงการ โดยมุ่งหวังที่จะได้แปลงสวนส้มสาธิตที่สามารถใช้เป็นสถานที่ดูงาน ฝึกอบรม และเผยแพร่แนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้ม เพื่อแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกส้มในพื้นที่ใกล้เคียง ได้นำแนวทางดังกล่าวไปใช้บริหารจัดการสวนส้มของตนเองอย่างแม่นยำและยั่งยืนต่อไป ซึ่งจะช่วยลดการใช้สารเคมีในระบบการปลูกส้มลงได้ อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมการพึ่งพาตนเองของเกษตรกรตามนโยบายของภาครัฐ ช่วยลดมลพิษที่จะเกิดจากสารเคมีเกษตรที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม และช่วยแก้ปัญหาที่มีการใช้สารปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสม อันจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคผลผลิตส้มอีกด้วย

แนวทางแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย ไชยปราการ คณะผู้วิจัยได้วางแนวทางแก้ปัญหาโดยการแก้ปัญหาสภาพความเสื่อมโทรมของดิน โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุ และปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินให้มีความเหมาะสม (pH 6.5-7.0) และส่งเสริมให้ความรู้แก่เกษตรกรเพื่อให้ใช้สารเคมีอย่างระมัดระวัง และใช้เท่าที่จำเป็น ดูแล ป้องกัน และรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของส้มที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา โดยวางแนวทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานในต้นส้ม และการบำรุงต้นส้มให้มีระบบรากที่สมบูรณ์แข็งแรง และดูแล ป้องกัน และรักษาโรคกรีนนิ่งส้ม ด้วยการกระตุ้นด้วยสารอิลิซิเตอร์ต่างๆ เพื่อให้ต้นส้มมีกลไกต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรค และเพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะ Ampicillin อย่างถาวร โดยโครงการมีวัตถุประสงค์ของโครงการเพื่อระบุสาเหตุของโรคต้นโทรมของส้ม ใช้เทคนิคทางชีวภาพในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ และจัดทำแปลงสาธิตให้ความรู้แก่เกษตรกรผู้ปลูกส้มโดยทั่วไป

จากการสำรวจแปลงทดลองในสวนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ จำนวน 4 รายดังนี้

1. สวนส้มปางเสี้ยว ตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 4 ปี)
2. สวนส้มสิทธิวงศ์ ตำบลสันต้นหม้อ อำเภอแม่ฮาย จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 10 ปี)
3. สวนส้มปู้หมื่น ตำบลห้วยป่าซาง อำเภอแม่ฮาย จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 25 ปี)

4. สวนสัมสมเกียรติ ตำบลแม่คะ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 4 ปี)

พบว่าทั้ง 4 สวน มีเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกันทั้งหมด คือไม่พบต้นที่ไม่แสดงอาการต้นโทรม และจากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม และจากการประเมินความรุนแรงของโรคในแต่ละสวน ทำให้พบว่าการจัดการแปลงปลูก อายุต้นส้ม สภาพดิน-น้ำ สภาพแวดล้อมและสภาพอากาศ และการใช้สารเคมีเกษตรต่างๆ มีผลต่อระดับความรุนแรงของการเกิดโรคต้นโทรม

เมื่อทำการสุ่มเก็บใบส้มที่แสดงอาการผิดปกติ ได้แก่อาการใบเหลืองต่าง เส้นใบเขียว ใบเรียวเล็ก เนื้อใบแข็ง ขรุขระบางส่วน จากสวนปางเสี้ยว ปู่หมื่น และสิทธิวงศ์ มาทำการตรวจการเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* สาเหตุโรครินนิ่งด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction พบเชื้อดังกล่าวในตัวอย่างที่เก็บจากสวนปางเสี้ยว 95.83 เปอร์เซ็นต์ สวนสิทธิวงศ์ 83.33 เปอร์เซ็นต์ และสวนปู่หมื่น ตรวจพบ คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และได้ทำการตรวจเพิ่มในใบที่ไม่แสดงอาการ สามารถตรวจพบเชื้อ 87.50 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าอาการของโรครินนิ่งมีความหลากหลายสูง ไม่มีรูปแบบชัดเจน โดยอาการสำคัญคือทำให้เนื้อใบบางส่วนของส้มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงซีด เส้นกลางใบและเส้นแขนงมีสีเขียวเข้มอยู่ โดยส่วนมากอาการพบที่ใบอ่อน ใบมีขนาดเล็กและหนากว่าปกติ อีกทั้งยังเชื้อแบคทีเรียสามารถเป็นเชื้อแฝงในใบที่ไม่แสดงอาการของโรคอีกด้วย โดยเชื้อดังกล่าวมีการระบาดและกระจายตัวอยู่ทั่วไปในพื้นที่ทำการทดลอง ทั้งในส้มที่มีอายุ 3-4 ปี (สวนปางเสี้ยว) และต้นส้มที่มีอายุมากกว่า 10 ปี (สวนปู่หมื่นและสิทธิวงศ์) แสดงว่าเชื้อดังกล่าวมีการพัฒนาอยู่ในพื้นที่มาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งทำให้มีโอกาสที่จะติดไปกับต้นกล้าพันธุ์ทั้งที่เกิดจากเมล็ดและกิ่งตอนได้

จากการสำรวจอาการรากเน่าของส้มในพื้นที่ทดลองพบอาการดังกล่าว 100 เปอร์เซ็นต์ แต่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน โดยพบว่าสวนปางเสี้ยว และสวนปู่หมื่นแสดงอาการรุนแรงมากที่สุด และเมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุ สามารถแยกเชื้อราได้ ได้ 64 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นเชื้อ *Phytophthora* จำนวน 37 ไอโซเลท และเชื้อ *Pythium* จำนวน 27 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี detached leave method และ seedling test method พบว่าร้อยละ 60 ของเชื้อทั้งหมด สามารถก่อให้เกิดโรคได้ โดยมีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคแตกต่างกัน ดังนั้นจากผลการทดสอบดังกล่าวจึงสรุปว่า สาเหตุของโรคต้นโทรมในส้มเขียวหวานเกิดจากการร่วมทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* และเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* โดยปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของอาการในแปลงคือสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะคุณภาพดิน และการระบายน้ำในดิน ซึ่งเห็นได้ชัดเจนในสวนปางเสี้ยว ซึ่งดินมีปริมาณของหินปูนสูง แสดงอาการโทรมรุนแรงที่สุด

สำหรับสาเหตุที่ทำให้ใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin เมื่อฉีดเข้าสู่ต้นส้มแล้วมีผลให้ต้นส้มฟื้นจากอาการโรคต้นโทรมชั่วคราวนั้น อาจเกิดจากการที่ Ampicillin ทำหน้าที่คล้าย phytohormones ที่สามารถกระตุ้นต้นส้มให้แข็งแรงขึ้นชั่วคราว ทำให้มีการแตกกิ่งก้าน และใบที่มีสีเขียวเข้ม เกษตรกรจึงเข้าใจว่าสารปฏิชีวนะ Ampicillin สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่งส้มได้ ซึ่งเมื่อคณะผู้วิจัยได้ตรวจสอบ mode of action ของ Ampicillin พบว่าสารดังกล่าวมีกลไกไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ แต่เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticus* เป็นแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์ จึงไม่น่าที่จะถูกยับยั้งได้ด้วยสาร Ampicillin ประกอบกับเมื่อพิจารณาถึงสารปฏิชีวนะ Tetracycline ที่มี mode of action ที่ไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว อีกทั้งยังมีรายงานว่าสาร Tetracycline ใช้ได้ผลดีในการรักษาโรครินนิ่งส้มในประเทศไต้หวันอีกด้วย ดังนั้นหากโรคต้นโทรมของส้มมีสาเหตุหลักเกิดจากโรครินนิ่งเพียงอย่างเดียวแล้ว สาร Tetracycline ก็น่าที่จะให้ผลในการรักษาโรครินนิ่งส้มได้ นอกจากนี้ยังมีข้อมูลจากเกษตรกรรายอื่นๆ ที่อ้างว่ามีการนำสาร Ampicillin ไปฉีดในต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และมีผลทำให้ต้นทุเรียนฟื้นจากอาการของโรคได้ชั่วคราวคล้ายกับที่เกิดในส้ม แต่เนื่องจากในต้นทุเรียนไม่มีโรครินนิ่ง จึงเป็นการพิสูจน์ได้ว่าสารปฏิชีวนะ Ampicillin น่าจะไปมีผลในการกระตุ้นให้พืชให้แข็งแรงคล้ายสาร phytohormones ในพืชจึงทำให้พืชฟื้นจากอาการเหลืองได้

การศึกษาใช้เทคนิคทางชีวภาพในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูก ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยสามารถแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเลี้ยงเชื้อได้จำนวน 48 ตัวอย่าง และเมื่อนำมาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าส้มข้างต้น พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท CP3, HT1 และ CP2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด ซึ่งได้เลือกไอโซเลทดังกล่าวเพื่อนำไปพัฒนาใช้ควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือนในรูปเชื้อสดต่อไป

การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรีนนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลอง ได้ทำการทดลองปลูกต้นกล้าส้มสายน้ำผึ้งที่ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่ง อายุ 1 ปี ภายในโรงเรือนปลูกต้นไม้สวนปทุมวัน โดยแบ่งการทดลองเป็น 12 กรรมวิธี เพื่อเปรียบเทียบการควบคุมโรครินนิ่ง และรากเน่าโดยการใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* spp. และการจัดการตามแบบของเกษตรกรคือเน้นการใช้ปุ๋ยเคมีทั้งทางดินและทางใบ โดยทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นส้มในกระถาง ได้แก่จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ความสูงของต้นส้ม ปริมาณคลอโรฟิลในใบส้ม ขนาดใบส้ม และปริมาณรากส้ม เป็นเวลา 8 เดือน พบว่าการจัดการโดยใช้ไบโอเทคนิค และการจัดการแบบเกษตรกร ทำให้ต้นส้มที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การจัดการด้วยวิธีไบโอเทคนิคของคณะผู้วิจัยสามารถใช้ทดแทนวิธีการที่ชาวสวนใช้สาร Ampicillin ได้

สำหรับการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมในแปลงปลูกส้มของเกษตรกร ได้ทำการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานโดยการใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบการจัดการตามแบบของเกษตรกร ในสวนส้มปทุมวัน สวนส้มเกียรติ สวนปางเสี้ยว และสวนสิทธวงศ์ โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรค วัดการเจริญเติบโตของต้นส้ม ได้แก่จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบส้ม ขนาดใบส้ม จำนวนการติดผล ขนาดของผล ความหวาน และปริมาณผลผลิต เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าการแตกยอด ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบ และการติดผลไม่แตกต่างกันทั้งสองวิธีการจัดการในแต่ละสวน แต่ผลการวัดขนาดของพบว่าสวนปางเสี้ยว สวนสิทธวงศ์ และสวนสมเกียรติมีขนาดผลส้มความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี แต่พบว่าเนื้อส้มในกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีเนื้อที่ฟาม และจำนวนเมล็ดลีบมากกว่า แต่ในสวนปทุมวันพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีขนาดผลที่ใหญ่กว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบความหวาน พบว่ากรรมวิธีไบโอเทคนิคมีความหวานมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีในทุกสวน ยกเว้นสวนปางเสี้ยว เนื่องจากไม่มีการเก็บผลผลิต ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในโรงเรือน ดังนั้นไบโอเทคนิคสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมี เพื่อรักษาคุณภาพของดินในระยะยาว และควรมีการส่งเสริมให้ใช้ไบโอเทคนิคอย่างต่อเนื่อง เพื่อแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มอย่างถาวรในอนาคต

จากผลการทดสอบข้างต้นพบว่า ถึงแม้การจัดการโรคต้นโทรมของส้มด้วยไบโอเทคนิคจะสามารถทำให้ส้มมีการเจริญเติบโตได้ดีเท่ากับการจัดการของเกษตรกรที่ใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลักก็ตาม แต่เกษตรกรมีความคาดหวังว่าจะได้ผลผลิตเป็นผลส้มที่มีคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ แต่ที่ผ่านมาพบว่า มีปัจจัยที่ทำให้การใช้ไบโอเทคนิคยังไม่ได้ผลดีตามที่คาดหวัง ซึ่งได้แก่ภาวะภัยแล้งที่เกิดขึ้นในฤดูการแรกของการทดลอง และภาวะฝนตกหนักมากจนมีผลโดยตรงต่อการฟื้นฟูต้นส้ม มีผลทำให้ต้นส้มยังมมีอาการของโรคต้นโทรมอยู่ และเมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตพบว่าเกษตรกรต้องลงทุนสูงกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในระยะเริ่มต้นของการรักษา ซึ่งยังให้ผลผลิตไม่เป็นที่พอใจของเกษตรกรได้เท่าที่ควร คณะผู้วิจัยจึงลงความเห็นว่า จะยังไม่ทำการจัดอบรมเผยแพร่องค์ความรู้นี้ตามแผนงานที่ได้ตั้งไว้เดิม โดยได้ปรับแผนงานจากการรักษาดันส้มที่แสดงอาการต้นโทรมซึ่งต้องใช้ทรัพยากรในการฟื้นฟูและรักษาสภาพต้นส้มปริมาณมาก ส่งผลทำให้ต้นทุนสูง มาเป็นวิธีการใช้ไบโอเทคนิคตั้งแต่เริ่มปลูกส้ม ร่วมกับการปรับสภาพดินให้มีการระบายน้ำดี โดยผสมปุ๋ยอินทรีย์และทรายลงในหลุมปลูก และพัฒนาการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ในรูปเชื้อสด ที่เกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณใช้เองได้ และได้จัดเตรียมแปลงสาธิตในพื้นที่สวนปทุมวัน แบ่งการทดลองออกเป็นสองกรรมวิธีคือการใช้ไบโอเทคนิคร่วมกับการปรับปรุงดิน และการจัดการโดยใช้ปุ๋ยเคมีตั้งแต่เริ่มการปลูก

อย่างไรก็ตาม จากการเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องพบว่า ความรุนแรงของอาการโทรมของต้นส้มจะเพิ่มมากขึ้นในทุกกรรมวิธี และทุกสวน โดยรุนแรงมากในสวนปางเสี้ยว ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงกันยายน ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนมาก ซึ่งเป็นภาวะปกติของการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรค โดยเฉพาะในแปลงที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีน้ำขัง สภาพดินเปียกชื้นมาก ความรุนแรงของโรคจึงขึ้นกับความสามารถในการระบายน้ำของดินที่จัดเป็นปัจจัยสำคัญในการบ่งชี้ถึงอาการของโรคที่อาจรุนแรงขึ้นหรือลดลงโดยหากดินมีการระบายน้ำดี รากของต้นส้มจะเจริญเติบโตได้ดี ต้นส้มก็จะฟื้นตัวได้ดี และให้ผลผลิตได้ตามความคาดหวัง ด้วยเหตุนี้ คณะผู้วิจัยจึง

ได้วางแผนการทดลองต่อเนื่องโดยมีการปรึกษารื้อกับฝ่ายเกษตรกรถึงระบบการจัดการระบบให้น้ำ และการระบายน้ำของดินบริเวณต้นส้ม ด้วยการปลูกส้มในระบบบ่อซีเมนต์ที่สามารถควบคุมสภาพการให้และการระบายน้ำของดินได้อย่างเต็มรูปแบบ โดยจะใช้ร่วมกับไบโอเทคนิคที่ได้วางแผนการจัดการไว้ ซึ่งจะรวมถึงการกำหนดจำนวนผลต่อต้น เพื่อไม่ให้ต้นส้มต้องแบกรับภาระมากเกินไปทำให้ต้นส้มให้ผลผลิตได้อย่างต่อเนื่อง และส่งผลให้การแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มเป็นไปได้อย่างถาวร

Executive Summary

Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco.) has been planted in Chiang Mai province for about 40 years. The major plantation area is Fang, Mae Ai and Chai Pra kan district. The suitable cold climate there makes fruit have a beautiful, dark yellow color, and good taste that makes a great demand of the market. For this reason, this area has been expanded to 500,000 hectares in these three districts which with good soil condition and no encountered problems with the accumulation of diseases and insects. But after using various agricultural chemicals (such as fertilizers, pesticides, herbicides, pesticide and fungicide) continuously and improperly, this caused various problems like chemical accumulation which makes the soil condition is acidic (pH 3.0-4.5), especially in the tangerine planting soil. Therefore, the disease outbreaks and causes the root rot of *Phytophthora parasitica* which destroyed the tangerine root system in all areas. In addition, there have been a lot reports about citrus greening disease such as Huanglongbing disease caused by *Candidatus Liberobacter asiaticus* with Asian citrus psyllid as a carrier. This infection can also spread by infected stocks. As a result, the citrus tree has been deteriorated seriously, together with the result of increasing the number of citrus plantations, causing too much production, the price of the product is severely depressed. And affect the income of the citrus orchard owner which makes many farmers to abandon tangerine. And many others who leave the garden without proper care of the tangerine tree. Therefore, this careless tangerine becomes a substrate for diseases and pests. The diseases outbreak early in each area, and thus these citrus trees must be cut immediately. So the number of citrus growing areas decreased continuously. Presently, the citrus planting area in Fang, Mae Ai and Chai Pra kan districts have been reduced to only 3,279 hectares.

For the remaining citrus farmers, they try to find a solution to solve these problems, focusing on treating citrus greening by introducing antibiotic injection techniques into the citrus trees from Taiwan for trial. However, after the injection of Tetracycline into the citrus trunk once a year, they found that such Tetracycline is not effective. Farmers then switched to use Ampicillin, which temporarily caused the citrus tree to recover from decline

symptoms. That can help the citrus tree recover to health. But such recovery is not sustainable. The citrus tree will become yellowish and decline again after about 3 months. So the farmers have to inject the substance every 3 months to maintain the production of tangerine. Which can now be said that almost all tangerine plantations in Chiang Mai now are injected antibiotics by ampicillin.

However, the survey of the research team found that even though the citrus tree is recovering by ampicillin regularly, it brought a series problem at the same time. For example, when examining the condition of the soil, the research team found that the soil is highly acidic ($\text{pH} = 3.0-4.5$) and also found symptoms of root rot, stem rot of citrus which caused by the fungus. So injecting Ampicillin into the citrus tree alone to get rid of greening citrus caused by bacteria is not permanent. Farmers have to inject such antibiotics every 3 months, resulting in a lot of waste. And also using the wrong antibiotic would affect the public health system of the consumers of citrus fruits.

The research team evaluated the cause of tangerine disease in Chiang Mai province for 3 main reasons: 1) caused by improper use of chemicals in the citrus planting system. And thus resulting in the chemical accumulation which deteriorated the soil condition. 2) When the soil condition becomes acidic ($\text{pH} = 3.0-4.5$), there is an outbreak of root rot disease caused by severe fungal rot. And also deteriorate citrus trees more susceptible for agents from other diseases 3) an outbreak of greening citrus that is caused by bacteria, which all three causes severe deterioration and eventually causes the dried citrus tree to die.

To solve such problems, cooperate with farmers who apply to participate in the project will lead to the demonstration of the citrus orchard plant. This can be used as a place to see work, training, and disseminate the guidelines for solving the problems. To advise citrus growers manage and manage their citrus gardens accurately and sustainably in nearby areas will help reduce the use of chemicals in the citrus planting system. It also promotes self-reliance of farmers in accordance with government policies, helps reduce pollution caused by residual agricultural chemicals in the environment and helps solve problems of improper antibiotics usage which could affect the consumer health as well.

Guidelines for solving the problems of the decline citrus tree in Fang, Mae Ai and Chai Prakan districts are: adding organic matter and adjusting the soil pH to be appropriate (pH 6.5-7.0); encouraging farmers to use chemicals carefully and using as necessary, prevent; treating root rot, stem rot of citrus caused by fungi by use of various antagonistic microorganisms to control fungal pathogens; Immune stimulation in citrus trees And nourishing the citrus tree to have a strong root system and care for prevention and treatment of citrus greening; With stimulation by various elixirs to allow the citrus tree to have a mechanism to prevent disease-causing microorganisms; replacing the permanent antibiotic Ampicillin. The project has the purpose to identify the cause of the decline citrus tree disease. Use biological techniques to control the disease on the citrus shoots in an effective transplantation condition. And create demonstration plots to educate citrus growers in general.

According to the survey of the experimental plots in the garden of 4 participating farmers as follows:

1. Pang Seaw orchard, Sri Dong Yen, Chai Prakan district, Chiang Mai Province (3-4 years tree)
2. Sitthawong orchard, Sun ton Mue, Mae Ai district, Chiang Mai Province (more than 10 years tree)
3. Phu Meun orchard, Huay Pa Sang, Mae Ai district, Chiang Mai Province (more than 25 years tree)
4. Som Kait orchard, Mae Ka, Fang district, Chiang Mai Province (3-4 years tree)

It was found that all 4 gardens had the same symptom. It is not found that a tree without decline symptoms. From assessing the severity of the decline and severity of disease in each garden. It was found that the management of planting, age of citrus tree, soil condition, water, environment, weather and the improper usage of various agricultural chemicals affected this serious disease.

We collected citrus leaves randomly from Pang Siao, Pu Muen and Sittawong. Unusual symptoms including yellow leaves, green leaves, slender leaves, thin, hard, rough leaves to investigate the bacterial infection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in greening by Polymerase Chain Reaction technique. It was found that 95.83 percent of specimens collected from Pang Seaw orchard Ten thousand were detected, 100 percent, and were

added to the leaves without symptoms. Able to detect 87.50 percent infection, indicating that the symptoms of greening disease are highly diverse. No clear pattern. The main symptom is that the flesh of some of the citrus leaves turns yellow until pale. The center line, leaves and branches are dark green. Most of the symptoms are found in young leaves. The leaves are smaller and thicker than usual. Also, bacteria can become latent in the leaves that do not show symptoms of the disease as well. The infection is spread and is spread throughout the experimental area. Both in Pang Seaw (3-4 years tree) and Phu Meun and Sitthawong (more than 10 years tree) show that the infection has developed in the area for a long time. Which gives the opportunity to stick to seedlings, both from seed and branch.

According to the survey of citrus root rot in experimental area, 100 percent of these symptoms were found, and with different severity levels. The most severe symptom was been found in the crescent garden and Phu Muen orchard showed. And when isolating the cause can isolate fungi in 64 isolates by dividing *phytophthora* into 37 isolates and 27 isolates of *Pythium* and when testing the pathogenicity in the laboratory conditions with the detached leave method and seedling test method showed that 60% of all infections can cause disease with varying severity of disease. Therefore, the results of the test concluded that the cause of decline stem disease in tangerine was caused by the destruction of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Phytophthora* and *Pythium*. Especially the soil quality, drainage which is clearly seen in the crescent garden, which the soil has a high amount of limestone showing the most severe decline symptoms.

The reason why usage of ampicillin antibiotics by injecting into the citrus tree can makes citrus tree be recovered from decline condition temporarily, is may be the Ampicillin which acts like phytohormones. This can stimulate the citrus tree to become stronger for a while to grow branches and leaves. Farmers therefore thought that ampicillin antibiotics can eliminate the citrus greening bacteria. When the research team examined the action mode of Ampicillin, it was found that the substance had a mechanism to inhibit the cell wall formation of gram-negative bacteria, but *Candidatus Liberobacter asiaticus* bacteria is a kind

of bacteria without cell walls. Therefore, not likely to be inhibited by Ampicillin, as well as considering the Tetracycline antibiotic with a mode of action that inhibits the synthesis of proteins in bacterial cells. Also reported that Tetracycline is effective in treating citrus greening in Taiwan as well. Therefore, if the decline disease of citrus is the main cause of greening disease alone, Tetracycline is likely to be effective in treating citrus greening. There is also information from other farmers who claims that Ampicillin is injected into the rotten tree root rot, caused by the *Phytophthora palmivora*, and results in the durian tree recovering from the symptoms of the disease for a time, similar to that caused in citrus. But because in the durian tree, there is no greening disease. It is proved that the ampicillin antibiotic should be effective in stimulating the plant to be strong like substance phytohormones in plants, thus allowing plants to recover from yellow symptoms.

The study uses biological techniques to control the shoots of citrus trees in the field of transplantation. Have isolated antagonistic microorganisms and tested the ability to control root rot disease in laboratory conditions by isolating the antagonistic fungus *Chaetomium* spp. In Chiang Mai Province. Strains were isolated from 48 samples. When testing the ability to control the growth of *Phytophthora* and *Pythium* which causes the root rot of the above, *Chaetomium* spp. Isolates CP3, HT1 CP2 is the best inhibitor of fungal fiber growth. Which has chosen such isolates to be developed and used to control root rot in the condition of fresh green house.

Controlling citrus decline disease (root rot, stem rot and greening) in greenhouse condition by planting tangerine seedlings that is propagated by means of a one-year-old cutting stock divided into 12 treatments to compare the control of greening disease, and root rot by using bio-techniques. The use of organic fertilizers is to improve soil quality together with the use of *Chaetomium* spp. Fungicide and the management of the farmers' model, emphasizing the use of chemical fertilizers both soil and foliar by measuring the growth of citrus trees in pots including the number of new shoots, length, peak, height of the citrus tree. The amount of chlorophyll in the citrus leaf, the size of the citrus leaf and the amount of citrus root for 8 months was found that the management using bio-technique

and farmers' management causing the citrus trees grown in both types of diseases to grow that are not different.

Test for controlling decline tree disease in farmers' citrus planting. Tested the control of tangerine disease of tangerine by using bio-techniques. The use of organic fertilizers to improve soil quality together with the use of *Chaetomium* fungi in the Som Kait, Pang Seaw and Sitthawong orchards. By assessing the severity of the disease, measuring the growth of citrus trees including the number of new shoots, length, amount of chlorophyll in the citrus leaf, citrus leaf size, number of fruiting, size of sweetness and yield for 11 months. Blade and the effects were not different in both methods of management in each garden. But, the results of the measurement of the size showed that Pang Seaw, Sitthawong and Som Kiat had different sizes of citrus fruits in each process. I was also found that the citrus flesh in the process using chemical fertilizer has a decaying area, and a larger number of seeds in Phu Meun orchard, the process of using chemical fertilizers has a larger effect. But when comparing the sweetness, it was found that the bio-technique is sweeter than the chemical fertilizer method of citrus in each garden, except for the crescent garden. Because there is no production which corresponds to the tests in the house. Therefore, biotechnology can be another option for farmers to reduce the use of chemical fertilizers to maintain long-term soil quality.

Based on the above test results, it was found that the management of citrus stem disease with bio-techniques can makes citrus grow more than management of farmers who use chemical fertilizers primarily. When calculating production costs, it was found that farmers had to invest higher than the use of chemical fertilizers at the initial stage of treatment which still gives the farmers unsatisfactory productivity. The research team therefore commented that the training was not carried out to disseminate this knowledge as originally planned. By adjusting the plan from treating the citrus trees that show decline symptoms which requires resources to restore the citrus tree volume. Resulting in high costs Is the use of bio-techniques since planting citrus together with adjusting soil conditions for good drainage By mixing organic fertilizer and sand into the planting hole And develop the

use of Chaetomium fungus in a fresh form that farmers can increase their use and prepared a demonstration plot in the Phu Meun area the experiment was divided into two methods: using bio-techniques together with soil improvement. And management using chemical fertilizers since planting.

However, from continuous data collection, it was found that the severity of the citrus trees shoots would increase in every process and every area, which was very severe in the crescent garden. During August to September, there are lots of rainfall which increased the ability to drain the soil. This may be the main factor that causes the symptoms of the disease to be more severe. Due to the citrus tree causing stress, susceptible to disease and the bacteria in the soil can grow well. Thus causing the citrus root system to be destroyed or cannot fully work in such conditions. Soil drainage management is an important problem in reducing the severity of the disease.

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	RDG5920052
ชื่อโครงการ:	การจัดการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานอย่างแม่นยำและยั่งยืนในจังหวัดเชียงใหม่
ชื่อนักวิจัย:	ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ¹ (หัวหน้าโครงการ) รัชดาวรรณ ชีวังกู ¹ , เกษม สร้อยทอง ² , ฐิติมา วงษ์วาน ¹ ¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ² คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ชื่อนักศึกษาช่วยวิจัย:	อำพล พรหมเมศร์, ปริญญ์ น้อยเรือง
Email address:	chaiwat.toanun@gmail.com, ratchadawan.c@cmu.ac.th aikasem@gmail.com, thitima.wongwan@cmu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ:	15 กันยายน 2559 ถึง 14 กันยายน 2561 ขยายเวลา 4 เดือน ถึง 14 มกราคม 2562
คำหลัก:	ส้มเขียวหวาน, จัดการแม่นยำ, ต้นโทรมของส้ม, กรีนนิ่ง, รากเน่าโคนเน่า

จากการสำรวจแปลงทดลองในสวนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ จำนวน 4 ราย ในพื้นที่อำเภอไชยปราการ ฝาง และแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าทั้ง 4 สวน คือสวนสวนปางเสี้ยว สวนสิทธิวงศ์ สวนปทุมเงิน และสวนสมเกียรติ มีเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกันทั้งหมด และจากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม และจากการประเมินความรุนแรงของโรคในแต่ละสวน ทำให้พบว่าการจัดการแปลงปลูก อายุต้นส้ม สภาพดิน-น้ำ สภาพแวดล้อมและสภาพอากาศ และการใช้สารเคมีเกษตรต่างๆ มีผลต่อระดับความรุนแรงของการเกิดโรคต้นโทรม เมื่อทำการสุ่มตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* สาเหตุโรครีนนิ่งด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction พบว่ามีการระบาดของเชือดังกล่าวในพื้นที่ปลูกมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชือดังกล่าวมีการพัฒนาอยู่ในพื้นที่มาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งทำให้มีโอกาสที่จะติดไปกับต้นกล้าพันธุ์ทั้งที่เกิดจากเมล็ดและกิ่งตอนได้ ส่วนการสำรวจอาการรากเน่าของส้มในพื้นที่ทดลองพบอาการดังกล่าว 100 เปอร์เซ็นต์ แต่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน ซึ่งจากการแยกเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* และเมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี detached leave method และ seedling test method พบว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมด สามารถก่อให้เกิดโรคได้ โดยมีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคแตกต่างกัน ดังนั้นจากผลการทดสอบดังกล่าวจึงสรุปว่าสาเหตุของโรคต้นโทรมในส้มเขียวหวานเกิดจากการร่วมทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* และเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* โดยปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของอาการในแปลงคือสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะคุณภาพดิน และการระบายน้ำในดิน

การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรีนนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลอง พบว่าการจัดการโดยใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบการจัดการตามแบบของเกษตรกรซึ่งใช้สารเคมีเป็นหลัก โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรค วัดการเจริญเติบโตของต้นส้มได้แก่จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบส้ม ขนาดใบส้ม และปริมาณราก พบว่าต้นส้มที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ส่วนการทดสอบการควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรที่ร่วมโครงการทั้ง 4 สวน ได้ทำการทดสอบเช่นเดียวกับในเรือนปลูกทดลอง เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าการแตกยอด ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ และการติดผลไม่แตกต่างกันทั้งสองวิธีการจัดการในแต่ละสวน แต่ผลการวัดขนาดของพบว่าสวนปางเสี้ยว สวนสิทธิวงศ์ และสวนสมเกียรติมีขนาดผลส้มความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี แต่พบว่าเนื้อส้มในกรรมวิธีที่ใช้

ปุ๋ยเคมีมีเนื้อที่ฟาม และจำนวนเมล็ดลืบมากกว่า แต่ในสวนปทุมนี้พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีขนาดผลที่โตกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบความหวาน พบว่ากรรมวิธีไบโอเทคนิคมียความหวานมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีในทุกสวน ยกเว้นสวนปางเสี้ยว เนื่องจากไม่มีการเก็บผลผลิต ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในโรงเรือน ดังนั้นไบโอเทคนิคสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมี เพื่อรักษาคุณภาพของดินในระยะยาว อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการใช้ไบโอเทคนิคและปริมาณผลผลิตที่ได้ ยังไม่เป็นที่พึงพอใจของเกษตรกร คณะผู้วิจัยจึงลงความเห็นยังไม่ทำการจัดอบรมเผยแพร่องค์ความรู้นี้ตามแผนงานที่ได้ตั้งไว้เดิม โดยได้ปรับแผนงานจากการรักษาดันส้มที่แสดงอาการต้นโทรมซึ่งต้องใช้ทรัพยากรในการฟื้นฟูสภาพต้นส้มปริมาณมาก ส่งผลทำให้ต้นทุนสูง เป็นการใช้ไบโอเทคนิคตั้งแต่เริ่มปลูกส้ม ร่วมกับการปรับสภาพดินให้มีการระบายน้ำดี โดยผสมปุ๋ยอินทรีย์และทรายลงในหลุมปลูก และพัฒนาการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ในรูปเชื้อสด ที่เกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณใช้เองได้ และได้จัดเตรียมแปลงสาธิตในพื้นที่สวนปทุมนี้ แบ่งการทดลองออกเป็นสองกรรมวิธีคือการใช้ไบโอเทคนิคร่วมกับการปรับปรุงดิน และการจัดการโดยใช้ปุ๋ยเคมีตั้งแต่เริ่มการปลูก ร่วมกับการจัดการการระบายน้ำในดินจึงเป็นโจทย์สำคัญในการลดความรุนแรงของโรคลงได้

Abstract

Project Code: RDG5920052

Project Title: Precision and Sustainable Management of Citrus Decline Disease in Chiang Mai Province

Researchers: Chaiwat To-anun¹ (Project leader)
Ratchadawan Cheewangkoon¹, Kasem Soyong², Thitima Wongwan¹
¹Faculty of Agriculture, Chiang Mai University ²Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Research assistants: Amphol Prommate, Parinn Noireung

Email address: chaiwat.toanun@gmail.com
aikasem@gmail.com, thitima.wongwan@cmu.ac.th

Project Duration: September 15, 2016 –September 14 2018; 4 months extension to January 14, 2019.

Keywords: Tangerine, precision management, citrus decline, greening, root and stem rot

From the survey of the experimental garden plot of 4 participating farmers in the area of Chai Prakan, Fang and Mae Ai district, Chiang Mai province, it was found that in Pang Seaw, Sithawong, Phu Meun and Som Kait orchards, all the symptoms are decline. The assessing the severity of the decline disease and from assessing the severity of disease in each garden found that the management of planting, age, citrus tree, soil condition, water, environment, weather and the use of various agricultural chemicals affected the severity of the disease. Randomly examining *Candidatus Liberibacter asiaticus* bacteria causing greening disease by Polymerase Chain Reaction technique, it was found that more than 80 percent of the outbreaks in the cultivated area show that the infection has developed in the area for a long time. Which gives the opportunity to stick to seedlings, both from seed and branch. The survey of citrus root rot in the experimental area showed 100 percent of the symptoms but the different severity levels from the isolation of *Phytophthora*, *Pythium* and the ability to develop disease in laboratory conditions using the detached leave method and the seedling test method. Cause disease with varying severity of disease. Therefore, the results of the test concluded that the cause of decline stem disease in tangerine was caused by the destruction of *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Phytophthora* and *Pythium*, especially the soil quality and drainage in the soil.

Decline Disease Control Test (Root rot, stem rot and greening) in the experimental plant found that management using bio-techniques is the use of organic fertilizers to improve soil quality. Together with the use of *Chaetomium* by assessing the severity of the disease, measurements were made for the growth of citrus trees including the number of shoots, the length, the amount of chlorophyll in the citrus leaf, the size of the citrus leaf, and the amount of the root. As for the controlling disease in the plots condition of the 4 farmers who participated in the project, the same tests were performed in the

experimental house for 11 months. And the effects were not different in both methods of management in each garden. While the measurement results showed that Pang Seaw, Sitthawong and Som Kait orchards had different sizes of citrus fruits in each process. I was also found that the citrus flesh in the process using chemical fertilizer has a decayed area and the larger number of seeds. But in Phu Meun, the process of using chemical fertilizers has a larger effect when comparing the sweetness. It was found that the bio-technique is sweeter than the chemical fertilizer method in every garden. Except for the crescent area because there is no production which corresponds to the tests in the house. Therefore, biotechnology can be another option for farmers to reduce the use of chemical fertilizers and maintain long-term soil quality. However, when comparing the cost of biotechnology and the amount of output, the farmers are satisfied. The research team therefore commented that the training was not carried out to disseminate this knowledge as originally planned. By adjusting the plan from treating the citrus trees that show decline symptoms which requires resources to restore the citrus tree volume resulting in high costs is the use of bio-techniques since planting citrus. Together with adjusting soil conditions for good drainage by mixing organic fertilizer and sand into the planting hole and develop the use of *Chaetomium* in a fresh form that farmers can increase their use and prepared a demonstration plot in the Phu Meun area. The experiment was divided into two methods: using bio-techniques together with soil improvement; management using chemical fertilizers since planting together with the management of soil drainage, it is an important problem in reducing the severity of the disease.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปผู้บริหาร	II
Executive Summary	VIII
บทคัดย่อ	XV
Abstract	XVII
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	7
บทที่ 3 การสำรวจโรคต้นไทรของส้มในแปลงเกษตรกรที่ร่วมโครงการ	20
บทที่ 4 การตรวจหาเชื้อโรคกรีนนิ่งในใบส้มที่แสดงอาการผิดปกติในแปลงทดลอง	24
บทที่ 5 การแยกเชื้อ การจำแนกชนิดของเชื้อราในระดับจีนัสด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าในส้ม	33
บทที่ 6 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ	45
บทที่ 7 การทดสอบการควบคุมโรคต้นไทร (รากเน่า โคนเน่า และกรีนนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลอง	52
บทที่ 8 ทดสอบการรักษาโรคต้นไทรในแปลงปลูกส้มของเกษตรกร	68
บทที่ 9 การจัดทำแปลงสาธิตการจัดการโรคต้นไทรของส้มเขียวหวาน	102
เอกสารอ้างอิง	106
ภาคผนวก	116

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรมในแปลงก่อนการทดลอง	23
ตารางที่ 2	Primers ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีนในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i>	27
ตารางที่ 3	ผลการวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่งของตัวอย่างส้มจากสวน ปทุมวัน สิทรวงศ์ และปางเสี้ยว	30
ตารางที่ 4	จำนวนเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Pythium</i> sp. ที่แยกได้จากสวนส้ม	38
ตารางที่ 5	ระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ในการทดสอบความสามารถใน การก่อโรคบนใบส้ม	42
ตารางที่ 6	ผลการประเมินระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคกับกล้าส้ม (seedling test method)	43
ตารางที่ 7	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> sp. ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ	48
ตารางที่ 8	ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Chaetomium</i> spp. แต่ละไอโซเลทที่มีผลต่อการ เจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. ไอโซเลท YY002, WF185 และ PS85	49
ตารางที่ 9	ความยาวยอดส้มของการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน	56
ตารางที่ 10	จำนวนยอดส้มของการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน	57
ตารางที่ 11	ความสูงต้นส้มจากการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน	58
ตารางที่ 12	ค่าคลอโรฟิลล์ของใบส้มจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน	59
ตารางที่ 13	ค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มใน สภาพโรงเรือน	60
ตารางที่ 14	ขนาดใบส้มจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน	61
ตารางที่ 15	ความสมบูรณ์ของรากต้นส้มสายน้ำผึ้งในแต่ละกรรมวิธีที่ทดสอบในโรงเรือน	63
ตารางที่ 16	ผลการประเมินโรคต้นโทรมสวนส้มปางเสี้ยว	72
ตารางที่ 17	ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนส้มปางเสี้ยวก่อนการทดลอง	74
ตารางที่ 18	ผลการประเมินโรคต้นโทรมสวนส้มปทุมวัน	75
ตารางที่ 19	ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนส้มปทุมวันก่อนการทดลอง	77
ตารางที่ 20	การประเมินโรคต้นโทรมสวนส้มสิทรวงศ์	78
ตารางที่ 21	ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนสิทรวงศ์ก่อนการทดลอง	79
ตารางที่ 22	ผลการประเมินโรคต้นโทรมสวนส้มสมเกียรติ	80
ตารางที่ 23	ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มของสวนปางเสี้ยว	82

สารตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 24	ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 3 กรรมวิธี	83
ตารางที่ 25	ค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 3 กรรมวิธีของสวนสิทรวงศ์	84
ตารางที่ 26	ค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 2 กรรมวิธีสวนสมเกียรติ	85
ตารางที่ 27	จำนวนยอดส้มที่ทำการนับของสวนปางเสี้ยวตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนตุลาคม 2560	86
ตารางที่ 28	ความยาวยอดส้มของสวนปางเสี้ยวที่ทำการวัดตั้งแต่เดือนมีนาคม ถึง เดือนตุลาคม 2560	86
ตารางที่ 29	ตารางแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนปางเสี้ยวในแต่ละกรรมวิธีในเดือน พฤษภาคม และเดือนตุลาคม 2560	87
ตารางที่ 30	ค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนปู้หมื่นในแต่ละกรรมวิธีในเดือน พฤษภาคม และเดือน กันยายน 2560	88
ตารางที่ 31	ค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนสิทรวงศ์ในแต่ละกรรมวิธี	89
ตารางที่ 32	ค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนสมเกียรติ	89
ตารางที่ 33	จำนวนผลส้มบนกิ่งส้มของสวนปางเสี้ยว	90
ตารางที่ 34	จำนวนผลส้มบนกิ่งของสวนปู้หมื่น	90
ตารางที่ 35	จำนวนผลส้มบนกิ่งส้มของสวนสิทรวงศ์	91
ตารางที่ 36	จำนวนผลส้มบนกิ่งส้มของสวนสมเกียรติ	92
ตารางที่ 37	ขนาดผลส้มของสวนปางเสี้ยว	92
ตารางที่ 38	ขนาดผลส้มของสวนปู้หมื่น	94
ตารางที่ 39	ขนาดผลส้มของสวนสิทรวงศ์	96
ตารางที่ 40	ขนาดผลส้มของสวนสมเกียรติ	97
ตารางที่ 41	ค่าความหวานของสวนปางเสี้ยวเดือนตุลาคม	99
ตารางที่ 42	ค่าความหวานของสวนปู้หมื่นเดือนตุลาคม	99
ตารางที่ 43	ค่าความหวานของสวนสิทรวงศ์เดือนตุลาคม	100
ตารางที่ 44	ค่าความหวานของสวนสมเกียรติเดือนตุลาคม	101

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
รูปที่ 1	ลักษณะต้นและผลของส้มเขียวหวาน	8
รูปที่ 2	แหล่งเพาะปลูกส้มเขียวหวานในประเทศไทย	8
รูปที่ 3	ลักษณะอาการของส้มที่ถูกเชื้อรา <i>Phytophthora parasitica</i> เข้าทำลาย โดยเกิดอาการเปลือกแตกยางไหล	14
รูปที่ 4	ตัวเต็มวัยของเพลี้ยไก่อั่ว หรือ Asian citrus psyllid (<i>Diaphorina citri</i>) ที่ดูดกินบนพืชอาศัย	15
รูปที่ 5	ลักษณะอาการโรคกรีนนิงบนใบส้มเปรียบเทียบกับระหว่างใบที่เป็นโรคกับปกติ	15
รูปที่ 6	ลักษณะอาการโรคกรีนนิงบนส้ม	16
รูปที่ 7	ลักษณะอาการโรคกรีนนิงของต้นส้ม	16
รูปที่ 8	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter</i> sp.	17
รูปที่ 9	ลักษณะวิธีการที่เกษตรกรชาวสวนส้มใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin ในการฉีดเข้าสู่ท่ออาหาร (phloem) ของต้นส้ม	18
รูปที่ 10	ลักษณะใบส้มที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุกรีนนิงที่พบในแปลงทดลอง	29
รูปที่ 11	ตัวอย่างผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter</i> จากตัวอย่างใบส้มจากสวนปางเสี้ยว ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)	31
รูปที่ 12	ตัวอย่างผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter</i> จากตัวอย่างใบส้มจากสวนสิทธิวงศ์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)	31
รูปที่ 13	ตัวอย่างผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter</i> จากตัวอย่างใบตัวอย่างส้มจากสวนปทุมวัน ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)	31
รูปที่ 14	ตัวอย่างผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter</i> จากตัวอย่างใบส้มที่เก็บมาจากต้นส้มที่ไม่แสดงอาการต้นโทรม	32
รูปที่ 15	ลักษณะอาการรากเน่าของส้มในแปลงทดลอง	37
รูปที่ 16	ตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน โดยพบว่าลักษณะเส้นใยของเชื้อแตกต่างกันออกไป	38
รูปที่ 17	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. และ <i>Pythium</i> sp. จำนวน 25 ไอโซเลตที่คัดเลือกจาก 64 ไอโซเลตมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา	40
รูปที่ 18	การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora</i>	41
รูปที่ 19	การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา <i>Pythium</i>	42
รูปที่ 20	ลักษณะอาการของต้นกล้าส้มภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน	43

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
รูปที่ 21	ตัวอย่างต้นกล้าส้มทำการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค(pathogenicity test) ด้วยวิธี seedling test method	44
รูปที่ 22	ลักษณะเชื้อรา <i>Chaetomium</i> sp. ที่แยกได้จากการทดลอง	47
รูปที่ 23	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Chaetomium</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> sp. สาเหตุโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวาน บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน	50
รูปที่ 24	ลักษณะของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือนเดือน กรกฎาคม	62
รูปที่ 25	ลักษณะทางกายภาพ (ขนาดทรงพุ่ม ขนาดใบ สีใบ และความสมบูรณ์ของราก) ของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือนระยะเวลา 10 เดือน (ปิดการทดลองในโรงเรือน)	64
รูปที่ 26	ลักษณะทางของราก ของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน ระยะเวลา 10 เดือน (ปิดการทดลองในโรงเรือน)	65
รูปที่ 27	เครื่อง pH meter แบบพกพา ยี่ห้อ Takemura รุ่น DM-13	70
รูปที่ 28	การวัดความยาวยอด	71
รูปที่ 29	ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนปางเสี้ยวเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559	72
รูปที่ 30	ลักษณะของต้นส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยว ในช่วงเดือนมกราคม – กันยายน 2560	73
รูปที่ 31	ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนปทุมเงินและลักษณะอาการของโรคต้นโทรมที่เกิดกับผลส้ม	76
รูปที่ 32	ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนสวนสิทรวงศ์ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559	78
รูปที่ 33	ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนสมเกียรติเดือนเมษายน พ.ศ.2560	81
รูปที่ 34	เครื่อง pH meter แบบพกพา ยี่ห้อ Takemura รุ่น DM-13	87
รูปที่ 35	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 1	93
รูปที่ 36	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 2	93
รูปที่ 37	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 3	93

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
รูปที่ 38	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 1	94
รูปที่ 39	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 2	95
รูปที่ 40	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 3	95
รูปที่ 41	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสิทธิวงศ์กรรมวิธีที่ 1	96
รูปที่ 42	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสิทธิวงศ์กรรมวิธีที่ 2	96
รูปที่ 43	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสิทธิวงศ์กรรมวิธีที่ 3	97
รูปที่ 44	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสมเกียรติกรรมวิธีที่ 1	98
รูปที่ 45	ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสมเกียรติกรรมวิธีที่ 2	98
รูปที่ 46	ลักษณะแปลงสาธิต และต้นส้มเขียวหวานภายหลังการลงปลูก 3 เดือน	104
รูปที่ 47	ต้นส้มที่ทำการปลูกในแต่ละกรรมวิธีเป็นระยะเวลา 3 เดือน	104
รูปที่ 48	กิจกรรมเผยแพร่งานวิจัยของโครงการ	118

บทที่ 1

บทนำ

1.ความเป็นมาของโครงการ

ส้มเขียวหวานเริ่มนำมาปลูกในจังหวัดเชียงใหม่เมื่อประมาณกว่า 40 ปีมาแล้ว โดยแหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการ เนื่องจากในเขตพื้นที่ดังกล่าวมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมคือมีอากาศเย็น ทำให้ผิวของผลส้มมีสีเหลืองเข้มสวยงาม มีรสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาดมาก ด้วยเหตุนี้จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกเฉพาะในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการจำนวนมากถึง 5 แสนไร่ โดยที่ในระยะเริ่มแรกเป็นการบุกเบิกพื้นที่ปลูกส้มใหม่ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีสภาพของดินดี และยังไม่พบปัญหาการสะสมของโรคและแมลง ต่อมาเมื่อมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่างๆ เช่น ปุ๋ยเคมี สารกำจัดศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช แมลง และเชื้อรา อย่างต่อเนื่องและไม่ถูกวิธี จึงก่อให้เกิดปัญหาการสะสมสารเคมีต่างๆ โดยเฉพาะในดินที่ปลูกส้ม เป็นผลทำให้สภาพดินเป็นกรดจัด (pH 3.0-4.5) จึงเกิดการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าคือเชื้อ *Phytophthora parasitica* เข้าทำลายระบบรากส้มโดยระบาดไปทุกพื้นที่ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบโรคกรีนนิงส้ม (Citrus Greening หรือ Huanglongbing) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticus* โดยมีเพลี้ยไก่แจ้ (Asian citrus psyllid) เป็นพาหะนำโรค และเชื่อกันยังสามารถแพร่โดยติดไปกับกิ่งพันธุ์ และเป็นผลทำให้ต้นส้มทรุดโทรมได้ ประกอบกับผลที่เกิดจากการเพิ่มพื้นที่เพาะปลูกส้มจำนวนมาก ทำให้มีผลผลิตออกสู่ตลาดมากเกินไป ราคาผลผลิตจึงตกต่ำอย่างรุนแรง และส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรเจ้าของสวนส้ม ทำให้เกษตรกรหลายรายต้องเลิกทำการปลูกส้ม และอีกหลายรายที่ปล่อยสวนทิ้งโดยไม่ได้มีการดูแลรักษาต้นส้มอย่างเหมาะสม จึงกลายเป็นแหล่งสะสมโรคและแมลง และเกิดการระบาดของโรคต้นโทรมไปทุกพื้นที่ และแต่ละสวนมีจำนวนต้นส้มที่ต้องตัดทิ้งทันทีเป็นจำนวนมาก ผลที่เกิดขึ้นทำให้จำนวนพื้นที่ปลูกส้มลดลงอย่างต่อเนื่อง จนในปัจจุบันพบว่าเหลือพื้นที่ที่ปลูกส้มในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย และไชยปราการเพียงประมาณ 2 หมื่นไร่เท่านั้น (ข้อมูลจากกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกส้มฝางและไชยปราการ, 2558)

สำหรับเกษตรกรชาวสวนส้มที่เหลืออยู่ได้พยายามหาทางแก้ไขโรคต้นโทรม มุ่งเน้นไปที่รักษาโรครีนนิงส้ม โดยได้มีการนำเทคนิคการฉีดสารปฏิชีวนะเข้าสู่ต้นส้มจากประเทศไต้หวันมาทดลองใช้ ด้วยการฉีดสาร Tetracycline เข้าลำต้นส้มปีละครั้ง แต่พบว่าสาร Tetracycline ดังกล่าวใช้ไม่ได้ผล เกษตรกรจึงเปลี่ยนมาใช้ Ampicillin ซึ่งมีผลทำให้ต้นส้มพ้นจากอาการต้นโทรมได้ชั่วคราว กล่าวคือช่วยให้ต้นส้มฟื้นตัวขึ้น โดยสามารถแตกกิ่งก้านที่มีใบใหม่เขียวเข้มและสามารถออกดอกและผลได้ แต่พบว่าอาการฟื้นตัวดังกล่าวจะไม่ยั่งยืน ต้นส้มจะมีการใบเหลืองและโทรมอีกครั้งเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 3 เดือน ทำให้เกษตรกรต้องฉีดสารดังกล่าวทุกๆ 3 เดือน จึงจะทำให้ได้ผลผลิตส้มออกมาได้ ซึ่งปัจจุบันอาจกล่าวได้ว่าสวนส้มเกือบทุกสวนในจังหวัดเชียงใหม่ ในขณะนี้มีการใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin ฉีดเข้าต้นส้ม

อย่างไรก็ตาม จากการสำรวจของคณะผู้วิจัย พบว่าถึงแม้ต้นส้มจะฟื้นตัวเมื่อได้รับสาร Ampicillin เป็นประจำ แต่เมื่อตรวจสอบสภาพของดินที่ปลูกส้ม พบว่าดินยังมีสภาพเป็นกรดสูง (pH = 3.0-4.5) และ

ยังพบอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของส้มที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราที่ยังคงระบาดอย่างรุนแรง ดังนั้นความเชื่อที่ว่า การฉีดสาร Ampicillin เข้าสู่ต้นส้มเพียงอย่างเดียว เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่งส้ม จึงเป็นการรักษาโรคต้นโทรมที่ไม่ถาวร เกษตรกรต้องฉีดสารปฏิชีวนะดังกล่าวทุกๆ 3 เดือน เป็นผลให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายจำนวนมาก และเป็นการใช้สารปฏิชีวนะที่ไม่ถูกวิธี ซึ่งย่อมส่งผลกระทบต่อระบบสาธารณสุขของประชาชนผู้บริโภคผลส้มได้

คณะผู้วิจัยได้ประเมินสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ไว้ 3 สาเหตุหลัก คือ 1) เกิดจากการใช้สารเคมีในระบบการปลูกส้มอย่างไม่เหมาะสม และไม่ถูกวิธี มีผลทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีดังกล่าว สภาพดินจึงเสื่อมโทรม 2) เมื่อสภาพดินเป็นกรดจัด (pH = 3.0-4.5) จึงเกิดการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราอย่างรุนแรง ทำให้ต้นส้มทรุดโทรมและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคอื่นๆ 3) เกิดการระบาดของโรครินนิ่งส้ม ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งทั้งสามสาเหตุก่อให้เกิดการทรุดโทรมอย่างรุนแรง และมีผลทำให้ต้นส้มแห้งตายในที่สุด

สำหรับสาเหตุที่ทำให้ใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin เมื่อฉีดเข้าสู่ต้นส้มแล้วมีผลให้ต้นส้มฟื้นจากอาการโรคต้นโทรมชั่วคราวนั้น อาจเกิดจากการที่ Ampicillin ทำหน้าที่คล้าย phytohormones ที่สามารถกระตุ้นต้นส้มให้แข็งแรงขึ้นชั่วคราว ทำให้มีการแตกกิ่งก้าน และใบที่มีสีเขียวเข้ม เกษตรกรจึงเข้าใจว่าสารปฏิชีวนะ Ampicillin สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่งส้มได้ ซึ่งเมื่อคณะผู้วิจัยได้ตรวจสอบ mode of action ของ Ampicillin พบว่าสารดังกล่าวมีกลไกไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียกรัมลบ แต่เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberobacter asiaticus* เป็นแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์ จึงไม่น่าที่จะถูกยับยั้งได้ด้วยสาร Ampicillin ประกอบกับเมื่อพิจารณาถึงสารปฏิชีวนะ Tetracycline ที่มี mode of action ที่ไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว อีกทั้งยังมีรายงานว่าสาร Tetracycline ใช้ได้ผลดีในการรักษาโรครินนิ่งส้มในประเทศไต้หวันอีกด้วย ดังนั้นหากโรคต้นโทรมของส้มมีสาเหตุหลักเกิดจากโรครินนิ่งเพียงอย่างเดียวแล้ว สาร Tetracycline ก็น่าที่จะให้ผลในการรักษาโรครินนิ่งส้มได้ นอกจากนี้ยังมีข้อมูลจากเกษตรกรรายอื่นๆ ที่อ้างว่ามีการนำสาร Ampicillin ไปฉีดในต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และมีผลทำให้ต้นทุเรียนฟื้นจากอาการของโรคได้ชั่วคราวคล้ายกับที่เกิดในส้ม แต่เนื่องจากในต้นทุเรียนไม่มีโรครินนิ่ง จึงเป็นการพิสูจน์ได้ว่าสารปฏิชีวนะ Ampicillin น่าจะไปมีผลในการกระตุ้นให้พืชให้แข็งแรงคล้ายสาร phytohormones ในพืชจึงทำให้พืชฟื้นจากอาการเหลืองได้

จากแนวทางการแก้ปัญหาดังกล่าวที่จะร่วมมือกับเกษตรกรที่สมัครเข้าร่วมในโครงการ จะทำให้ได้แปลงสวนส้มสาธิตที่สามารถใช้เป็นสถานที่ดูงาน ฝึกอบรม และเผยแพร่แนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้ม เพื่อแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกส้มในพื้นที่ใกล้เคียง ได้นำแนวทางดังกล่าวไปใช้บริหารจัดการสวนส้มของตนอย่างแม่นยำและยั่งยืนต่อไป ซึ่งจะช่วยลดการใช้สารเคมีในระบบการปลูกส้มลงได้ อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริมการพึ่งพาตนเองของเกษตรกรตามนโยบายของภาครัฐ ช่วยลดมลพิษที่จะเกิดจากสารเคมี

เกษตรที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม และช่วยแก้ปัญหาที่มีการใช้สารพิษที่ไม่เหมาะสม อันจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคผลผลิตส้มอีกด้วย

2. แนวทางในการดำเนินงานของโครงการ

แนวทางแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มในเขตอำเภอฝาง แม่ฮาย ไชยปราการ คณะวิจัยได้วางแผนแนวทางแก้ปัญหาไว้ 3 ประการ ดังนี้คือ

1. การแก้ปัญหาสภาพความเสื่อมโทรมของดิน โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุ และปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินให้มีความเหมาะสม (pH 6.5-7.0) และส่งเสริมให้ความรู้แก่เกษตรกรเพื่อให้ใช้สารเคมีอย่างระมัดระวัง และใช้เท่าที่จำเป็น
2. การดูแล ป้องกัน และรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของส้มที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา โดยวางแผนทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานในต้นส้ม และการบำรุงต้นส้มให้มีระบบรากที่สมบูรณ์แข็งแรง
3. การดูแล ป้องกัน และรักษาโรครินนิ่งส้ม ด้วยการกระตุ้นด้วยสารอิลิซิเตอร์ต่างๆ เพื่อให้ต้นส้มมีกลไกต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรค และเพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะ Ampicillin อย่างถาวร

3. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อระบุสาเหตุของโรคต้นโทรมของส้ม
2. เพื่อใช้เทคนิคทางชีวภาพในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ
3. เพื่อเป็นแปลงสาธิตให้ความรู้แก่เกษตรกรผู้ปลูกส้มโดยทั่วไป

4. แผนการดำเนินงานของโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
1. ระบุสาเหตุโรคต้นโทรมของส้ม	สำรวจโรคต้นโทรมของส้ม แยกเชื้อ และพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับส้มในห้องปฏิบัติการ
2. ควบคุมและรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ	การแยกเชื้อจุลินทรีย์และทดสอบความสามารถในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าส้มในจานเพาะเชื้อ การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมในสภาพโรงเรือน และการทดสอบพื้นที่ต้นส้มในสภาพแปลงปลูก
3. จัดทำศูนย์การเรียนรู้การฟื้นฟูโรคต้นโทรมของส้ม	จัดการอบรม สัมมนา ดูงานโดยใช้แปลงสาธิตที่สามารถฟื้นฟูอาการโรคต้นโทรม ให้แก่เกษตรกรชาวสวนส้มที่สนใจ

5. ผลที่คาดว่าจะเกิดขึ้นจากโครงการ

แผนกิจกรรมและผลที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการทุกระยะ 6 เดือน เป็นไปตามตาราง ดังนี้

กิจกรรม	ผลที่คาดว่าจะได้รับ
6 เดือนที่ 1	
1. สำรวจโรคต้นโทรมของส้ม แยกเชื้อ และพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับส้ม ในห้องปฏิบัติการ 2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยา การทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อราบนโคนเน่าในงานเพาะเชื้อ	1. ทราบสาเหตุโรคต้นโทรมของส้มเบื้องต้น 2. ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยา ที่สามารถใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคต้นโทรมของส้มในระดับห้องปฏิบัติการ
6 เดือนที่ 2	
1. ศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำแนกชนิดด้วยเทคนิคอนุชีววิทยา 2. ทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรีนนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลองและทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือน	1. ทราบถึงความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าส้ม ที่สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานในระดับนานาชาติได้ 2. สามารถตอบคำถามถึงสาเหตุโรคต้นโทรมว่ามีสาเหตุหลักเกิดจากสิ่งใด และสามารถกำหนดแนวทางแก้ไขได้อย่างเป็นรูปธรรม
6 เดือนที่ 3	
1. ทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมในเรือนปลูกทดลอง และในแปลงปลูกส้มของเกษตรกร	1. พิสูจน์แนวทางแก้ไข และแนวทางปฏิบัติในการควบคุมโรคในระดับแปลงทดลองสาธิต
6 เดือนที่ 4	
1. ติดตามการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมในเรือนปลูกทดลอง และในแปลงปลูกส้มของเกษตรกร 2. เผยแพร่ความรู้ในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มโดยจัดสัมมนา อบรมและดูงานในแปลงสาธิต	1. พิสูจน์ ยืนยัน ถึงแนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมอย่างแม่นยำ และยั่งยืน 2. ได้เกษตรกรผู้ปลูกส้มที่สามารถบริหารจัดการสวนส้มอย่างแม่นยำ สามารถปัญหาการใช้สารเคมีเกษตร และเพิ่มขีดความสามารถในการพึ่งพาตนเอง

6. ผลที่คาดว่าจะได้รับเมื่อสิ้นสุดโครงการ

1. ต้องระบุสาเหตุของโรคต้นโทรมของส้มได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เพื่อนำไปสู่แนวทางแก้ไขอย่างยั่งยืน

2. ใช้เทคนิคทางชีวภาพในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ
3. จัดทำศูนย์การเรียนรู้การฟื้นฟูโรคต้นโทรมของส้มออกเผยแพร่แก่เกษตรกรผู้ปลูกส้ม

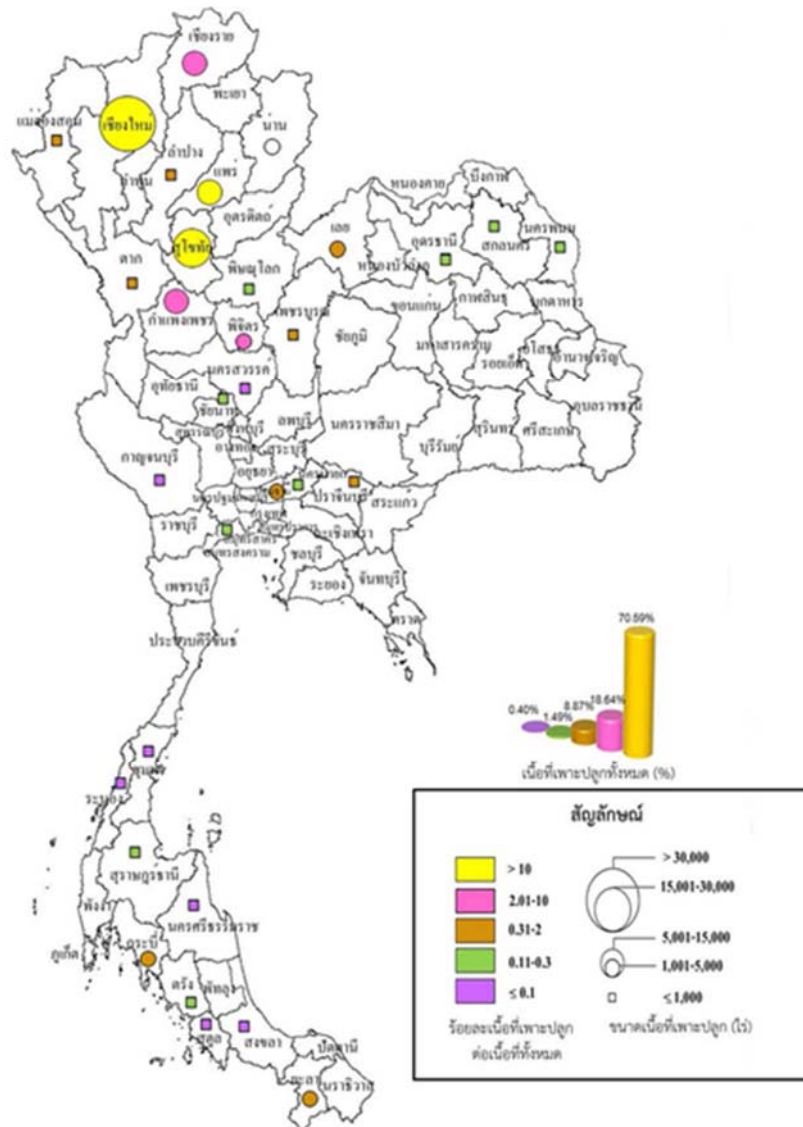
บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ส้มเขียวหวาน (Tangerine: *Citrus reticulata* Blanco) เป็นไม้ผลขนาดเล็ก (ภาพที่ 1) ต้นสูงประมาณ 2.5-3 เมตร ทรงพุ่มมีลักษณะแน่นทึบ เริ่มให้ผลผลิตเมื่ออายุ 3 ปี และถ้ามีการดูแลรักษาอย่างดีจะให้ผลผลิตไม่ต่ำกว่า 15 ปี ตั้งแต่เริ่มออกดอกจนถึงดอกบานใช้เวลาประมาณ 20-25 วัน นับจากดอกบานจนถึงผลแก่ใช้เวลาประมาณ 8 เดือน ต้นส้มเขียวหวานที่มีอายุ 10 ปี ให้ผลผลิตประมาณ 150-180 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี น้ำหนักเฉลี่ยของผลประมาณ 8 ผลต่อ 1 กิโลกรัม (<https://th.wikipedia.org/wiki/ส้ม>) ในประเทศไทยมีผู้สันนิษฐานว่ามีการนำเข้าต้นพันธุ์ส้มมาจากประเทศจีนมาปลูกเมื่อประมาณกว่า 100 ปีมาแล้ว โดยส้มจัดเป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากมีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย เมื่อแกะผลออกจะมีกลิ่นหอมทำให้เป็นที่นิยมบริโภคกันมาก ทั้งในรูปของผลไม้สดและในรูปของน้ำส้มคั้น ซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางอาหารสูงแล้วการบริโภคในลักษณะที่รวมทั้งเส้นใย และกากจะเป็นยาระบายอ่อนๆ อีกด้วย ทำให้ส้มเขียวหวานที่ผลิตในแต่ละปีจะใช้บริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน นำรายได้เข้าประเทศปีละหลายล้านบาท (ขจรศักดิ์, 2557) ปกติส้มเขียวหวานไม่ชอบน้ำขังจึงเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีการระบายน้ำดี ได้แก่ ดินร่วน ดินร่วนปนทราย ดินเหนียวที่ปรับปรุงสภาพให้เหมาะสม โดยมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินประมาณ 6-7 เป็นไม้ผลที่ต้องการน้ำสม่ำเสมอ ดังนั้นพื้นที่ปลูกจึงควรมีแหล่งน้ำอย่างเพียงพอ โดยแหล่งปลูกส้มเขียวหวานในประเทศไทยพบว่าปลูกได้ในหลายพื้นที่ (รูปที่ 2) ส้มเขียวหวานมีหลายสายพันธุ์ เช่น ส้มเขียวหวานแหลมทองที่มีพื้นที่ปลูกเดิมอยู่ในจังหวัดราชบุรี เป็นส้มที่มีลำต้นขนาดใหญ่ ออกดอกติดผลค่อนข้างยาก ขนาดผลปานกลาง และมีรสชาติหวานจัด, ส้มบางมด เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันทั่วไป ติดผลดกขนาดผลปานกลาง ทรงผลค่อนข้างกลมถึงแป้นเล็กน้อย ผิวผลสีเขียวอมเหลือง แต่เมื่อปลูกทางภาคเหนือผิวผลจะมีสีเหลืองเข้ม ผิวเรียบ ก้นผลราบถึงเว้าเล็กน้อย กลีบแยกออกจากกันง่าย เนื้อผลสีส้ม ขาน้ำน้อย รสชาติหวานอมเปรี้ยว, ส้มโชกุน เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกทางภาคใต้รู้จักกันในชื่อส้มสายน้ำผึ้ง หรือส้มเพชรยะลา ลักษณะทรงต้นและขนาดต้นใกล้เคียงกับส้มบางมด แต่ทรงพุ่มค่อนข้างจะหนากว่า กิ่งและใบตั้งขึ้น ใบมีขนาดเล็กกว่าส้มบางมด แต่สีใบเขียวเข้มกว่า (ขจรศักดิ์, 2557) สำหรับปัญหาสำคัญในการปลูกส้มเขียวหวานคือโรคต้นโทรมที่มีสาเหตุเกิดจากหลายสาเหตุทั้งโรคและแมลง แต่ที่สำคัญและเป็นปัญหามากได้แก่ โรคกรากเน่าโคนเน่าและโรคกรีนนิ่ง (greening หรือ huanglongbing) (Menge and Nemec, 1997; Drenth and Guest, 2004; da Graça and Korsten, 2004)



รูปที่ 1. ลักษณะต้นและผลของส้มเขียวหวาน จากสวนส้มสีทอง (ถ่ายภาพวันที่ 9 เมษายน 2560)



รูปที่ 2. แหล่งเพาะปลูกส้มเขียวหวานในประเทศไทย (ที่มา: <http://www.oae.go.th/fruits/index.php/oranges-data>)

โรครากเน่าและโคนเน่าของส้ม (Phytophthora foot rot and root rot) จัดเป็นโรคที่รุนแรงและทำความเสียหายให้กับส้มมากที่สุดโรคหนึ่ง มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dastur (Davis, 1982) โรคนี้มีความสำคัญมากในส้มและในไม้ผลอีกหลายชนิด เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้เจริญเติบโตในดิน อาการของพืชมักเกิดที่โคนต้นและระบบราก ทำให้รากเน่า โคนต้นเปลือกปริแตก มีอาการยางไหล (รูปที่ 3) ในสภาพที่อากาศชื้นเมื่อใช้มีดบาดที่เปลือกบริเวณที่เป็นโรคจะเห็นเป็นสีน้ำตาลแดงถึงดำ ต้นส้มแสดงอาการใบเหลืองซีด ลู่ลง กิ่งบางกิ่งเริ่มแห้งตาย โดยจะเริ่มแห้งตายจากยอดก่อน เชื้อราอาจทำให้เกิดแผลเน่าฉ่ำน้ำที่ใบและผล ทำให้ผลร่วงเป็นจำนวนมาก โรคนี้แพร่ระบาดโดยสามารถติดไปกับน้ำฝน ดินปลูก และต้นกล้า สำหรับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคือดินแน่นและมีน้ำขัง ไม่สะดวกต่อการถ่ายเทอากาศและการระบายน้ำ สำหรับสภาพที่ส่งเสริมทำให้ต้นส้มอ่อนแอต่อการเกิดโรคมักขึ้น ได้แก่ การติดลูกมากเกินไป รากหรือโคนต้นเกิดบาดแผล ต้นส้มขาดการดูแลรักษา หรือเกิดจากการให้ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไป โรคนี้จะระบาดได้รุนแรงยิ่งขึ้นในสวนส้มที่ค่อนข้างทึบ บริเวณทรงพุ่มมีความชื้นสูงมาก การแก้ปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าจำเป็นต้องแก้ไขที่ดินปลูก โดยการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคในดิน เนื่องจากเชื้อราสาเหตุสามารถอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช เศษซากพืช ในดินและในแหล่งน้ำธรรมชาติ การใช้สารเคมีไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ทั่วถึง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง อายุการออกฤทธิ์ของสารเคมีสั้น และสารเคมีเสื่อมสลายได้ง่าย ดังนั้น การป้องกันกำจัดที่ดีจึงต้องอาศัยการใช้ชีววิธีในการควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุโรค (Soytong *et.al.*, 2001) ซึ่งแนวทางการแก้ไขโรครากเน่าโคนเน่าของส้มควรใช้วิธีหลายๆ วิธีร่วมกัน เช่น การปลูกส้มให้มีแถว หรือร่องไปตามแนวทิศทางที่ทำให้ส้มได้รับแสงแดดเพียงพอ ใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อช่วยให้ดินโปร่งและมีสภาพดีขึ้น ไม่ใช้ปุ๋ยคอกที่ยังสดใหม่ ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไป อย่าให้ส้มติดลูกมากเกินไป ควรบำรุงต้นส้มให้แข็งแรง รมั้ดระวังไม่พรวนดินจนทำให้เกิดแผลที่รากส้ม ตัดแต่งทรงพุ่มเพื่อให้โคนต้นไม่รกทึบ กำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของดินให้มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.5-7.0 ด้วยโดโลไมท์ ปูนขาว หรือยิปซัม ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ โรยรอบๆ ทรงพุ่มเพื่อช่วยป้องกันจากเชื้อสาเหตุโรค และหากพบเศษซากพืชที่เป็นโรคในแปลง ควรขุดออกไปทำลาย ในกรณีที่พบอาการของโรคที่บริเวณโคนต้น ให้ใช้มีดคมๆ ถากเปลือกที่เป็นโรคออกแล้วทาด้วยสารกำจัดเชื้อรา Metalaxyl เป็นต้น (อำไพวรรณ และคณะ, 2542; Agrios, 2005; Soytong *et.al.*, 2001)

โรครากเน่า และโคนเน่าของส้ม

โรครากเน่า และโคนเน่าของส้ม จัดเป็นโรคที่รุนแรงและทำความเสียหายให้กับส้มมากที่สุดโรคหนึ่ง โดยเฉพาะโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อราไฟทอปทอรา เนื่องจากเป็นโรคที่ป้องกันกำจัดได้ยาก เชื้อสาเหตุของโรคอาศัยอยู่ในดินและน้ำ สามารถแพร่ระบาดได้กว้างขวาง (อำไพ และคณะ, 2527)

อาการของโรค

เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายส้มได้ทั้งรากฝอย รากแขนง ที่ส่วนโคนต้น และตามบริเวณกิ่งใหญ่ใกล้โคนต้น อาการที่ปรากฏบนส่วนลำต้น หรือส่วนบนเช่นใบ อาจสังเกตอาการได้ยากมาก หากต้นส้มถูกทำลายที่ส่วนรากฝอยเพียงเล็กน้อย ส่วนบนต้นส้มอาจไม่แสดงอาการผิดปกติเลย เว้นแต่ว่าต้นส้ม

อาจเจริญไม่เต็มที่ ไม่ค่อยแตกใบ และบางครั้งอาจพบอาการใบอ่อนเหี่ยวคล้ายขาดน้ำ ในกรณีรากส้มถูกทำลายมากๆ บางกิ่งอาจแสดงอาการในเหลืองบริเวณเส้นกลางใบ ใบเหี่ยวคล้ายขาดน้ำ (หรือที่ชาวสวนเรียกว่า อาการใบกลับ) ใบร่วงกิ่งแห้งตายจากปลาย ผลส้มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และอาจร่วงเมื่อขูดดูรากพบว่ารากเน่าเป็นสีน้ำตาลแดง หรืออมส้ม เหนียว ไม่ยุ่ย สำหรับต้นส้มอายุ 5-6 ปีขึ้นไป บางครั้งอาการเปลือกปริแตกตามบริเวณโคนต้น ส่วนเปลือกมักมีสีคล้ำ ค่อนข้างฉ่ำน้ำ และอาจพบอาการยางไหลตรงบริเวณรอยแผล เมื่อผ่าดูส่วนเปลือกออกดู จะพบว่าเปลือกเน่า และอยู่มีแผลสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดงตรงบริเวณเหนือโคนต้น หากปล่อยให้โรคลุกลามจะทำให้ต้นทรุดโทรมยากต่อการรักษาและป้องกันการระบาดของโรค

หากเชื้อรา *Phytophthora* ติดไปกับหยดน้ำ หรือถูกลมฝนพัดพาไปยังใบ ดอก และผลที่อยู่บนกิ่งล่างๆ ใกล้ระดับดิน หรือใกล้กับบริเวณแผลโคนเน่า เชื้อจะทำลายใบอ่อน ทำให้เกิดอาการเน่าหรือไหม้เป็นวงกลม สีน้ำตาลเข้ม หรือน้ำตาลดำ ตรงบริเวณกลางใบ ขอบใบ หรือปลายใบ ทำให้ใบหลุดร่วงได้ หากเกิดบนยอดอ่อน ยอดอ่อนนั้นจะเน่าแห้งเป็นสีดำสนิท ถ้าเชื้อเข้าทำลายดอก จะทำให้ดอกเน่าแห้ง และหากเข้าทำลายผลที่โตแล้ว โดยเฉพาะผลแก่ในระยะเขาสี ผลจะเน่าเป็นสีน้ำตาล เริ่มจากแผลขนาดเล็กแล้วลุกลามเป็นแผลเน่างวงกลม หรือเน่าทั้งผล อาจมีเส้นใย และสปอร์สีขาวของเชื้อรา *Phytophthora* เจริญอยู่บนแผล ผลจะร่วงเป็นจำนวนมาก เรียกอาการที่เกิดกับใบ ดอก และผลนี้ว่า โรคใบไหม้ ดอกเน่า และผลเน่า (brown rot) สาเหตุของโรคเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* โดยเชื้อนี้อาศัยอยู่ในดิน และน้ำ แพร่กระจายโดยติดไปกับดิน หรือส่วนของส้มที่เป็นโรค และสปอร์ซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำที่ไหลผ่านราก หรือโคนต้นที่เป็นโรค พบโรคนี้ระบาดรุนแรงมากในส้มที่ปลูกแบบยกทรง

ในปี 2003 Graham *et al.* ทำการศึกษาโรคของส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยพบว่าเชื้อสาเหตุที่สำคัญ ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า และผลเน่าสีน้ำตาลของส้มเป็นเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* และเชื้อรา *Phytophthora citrophthora* โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายต้นกล้าส้มทำให้เกิดอาการ damping-off เข้าทำลายที่ระบบรากทำให้เกิดอาการรากเน่า (root rot) และยังสามารถเข้าทำลายผลส้ม ทำให้เกิดอาการผลเน่าสีน้ำตาล (brown rot) ซึ่งทำให้ผลผลิตของส้มลดลง โดยการป้องกันและกำจัดโรคนั้น ควรมีการแช่เมล็ดส้มด้วยน้ำร้อนก่อนนำไปเพาะเพื่อทำเป็นต้นต่อ หรือใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น metalaxyl และ fosetyl-Al และจากการรายงานของ Bowman *et al.* (2007) พบว่าเชื้อสาเหตุของโรคทางดินที่สำคัญที่เข้าทำลายส้มในฟลอริดานั้นคือ *Phytophthora nicotianae* และ *Phytophthora palmivora* และการศึกษาการจำแนกเชื้อสาเหตุโรคเน่าของส้ม (*Phytophthora nicotianae* และ *Phytophthora palmivora*) ด้วยเทคนิคทางโมเลกุล โดยทำการสกัด DNA จากรากส้ม และเส้นใยของเชื้อราเหตุโรคไปทำกระบวนการ PCR และ PCR-RFLP เพื่อแยกความแตกต่างของเชื้อ และตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคที่แท้จริง โดยการทำ PCR นั้นใช้ specific primer คือ PNIC1 และ PNIC2 เพื่อจำแนกเชื้อ *Phytophthora nicotianae* ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคและเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลการจำแนกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การ

ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อ การตรวจสอบทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาของเชื้อ เป็นต้น โดยการเข้าทำลายของเชื้อทั้งสองชนิดนี้ ทำให้น้ำหนักของราก ยอด และต้นกล้าของสมันลดลง

การป้องกันกำจัด

1. สำหรับสวนส้มที่ปลูกใหม่ และปลูกแบบยกร่อง ควรยกร่องไปตามแนวทิศเหนือ-ใต้ เพื่อให้สมันได้รับแสงแดดพอควร
2. การใส่ปุ๋ยคอกจะช่วยให้ดินโปร่ง และมีสภาพดีขึ้น ระวังอย่าใส่มากเกินไป และอย่าใส่ใกล้กับโคนต้น
3. บำรุงต้นส้มให้แข็งแรง อย่าปล่อยให้ติดลูกมากเกินไป ระวังเรื่องการพรวนดิน โดยไม่ทำให้เกิดแผลที่รากและโคนต้น
5. หมั่นตรวจสอบสภาพของต้นสมันว่าแสดงอาการของโรครากเน่า และโคนเน่าหรือไม่ หากพบว่าโรคเริ่มระบาด และแน่ใจว่าเกิดจากเชื้อไฟทอปทอราควรทำการฉีดพ่นด้วยสารเคมี ได้แก่ metalaxyl และ fosetyl-Al ในอัตราตามคำแนะนำ หรือหากเกิดอาการโคนเน่า แผลเน่าซ้ำ เปลือกแตกยางไหล ให้ใช้มิดที่สะอาด และคม ถากส่วนเปลือกที่เป็นโรคออกให้หมด โดยไม่ให้กระทบกระเทือนต้นสมัน ใช้ปูนสีผสมปูนขาว อัตราส่วน 1:1 ผสมน้ำ และสีทาไม้พอกให้เป็นแป้งเปียก ทาบริเวณรอยแผลให้ทั่ว สารเคมีอื่นๆ ที่ให้ผลดีได้แก่ copper oxychloride captafol metalaxyl และ fosetyl-Al เป็นต้น
6. เก็บรวบรวมใบ ดอก ยอดอ่อน และผลที่เป็นโรค ทั้งที่อยู่บนต้น และร่วงบนดิน ทำลายโดยการเผา เพื่อลดแหล่งของเชื้อ และการแพร่ระบาดของโรค
7. ต้นที่เป็นโรคราก หรือทุดโทรมมาก ควรขุดเผาทำลาย แล้วราดดินบริเวณนั้นด้วยสารเคมีชนิดที่กล่าวมาข้างต้น จากนั้นปล่อยให้ดินตากแดดนาน 2-3 เดือน จึงปลูกสมันต้นใหม่แซม ทาบริเวณโคนต้นที่ปลูกแซมด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อราโดยรอบ สูงจากระดับพื้นดิน 1 ฟุต

ชีววิทยาของ *Phytophthora* (ทวี, 2548)

Phytophthora spp. จัดอยู่ใน class Oomycetes ซึ่งมีลักษณะเด่นคือ สร้างสปอร์จากการไม่ผสมทางเพศเรียกว่า zoospore ซึ่งมีหาง 2 หาง (flagella) มีความยาวไม่เท่ากัน หางหนึ่งเป็นลักษณะแบบเส้นที่มีขนอ่อนโดยรอบคล้ายแปรงล้างขวด (tinsel flagellum) ทำหน้าที่ช่วยโบกให้ไปข้างหน้า อีกหางมีลักษณะคล้ายแส้ (whiplash flagellum) ทำหน้าที่ช่วยโบกให้ถอยหลังในการเคลื่อนย้าย หรือการว่ายน้ำของ zoospore ซึ่งเกิดใน sporangium เชื้อ *Phytophthora* spp. เป็นสาเหตุของโรคของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ทั้งระยะกล้า และระยะต้นไม่ใหญ่ ในขณะนี้พืชผลโดยเฉพาะไม้ผล พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทยกำลังมีปัญหาเกี่ยวกับเชื้อนี้ค่อนข้างมาก

จีนัส *Phytophthora* เป็น 1 ใน 9 genera ที่เป็นสาเหตุโรคพืชในกลุ่ม Oomycetes ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีรูปร่าง และการเจริญคล้ายรา (fungus-like) และถูกกำหนดให้อยู่ในกลุ่ม Stramenopiles ซึ่งเป็นกลุ่มที่สร้าง zoospore มี 2 หาง ที่ความยาวไม่เท่ากัน การสร้าง zoospore ของ *Phytophthora* เกิดจากการแบ่งตัวของ cytoplasm ภายใน sporangia zoospores ดังกล่าว ไม่มี cell wall แต่มี plasma membrane เมื่อ zoospore ว่ายน้ำหรือเคลื่อนที่ไปเจอพืชอาศัย จะปลดหางทิ้ง และเข้า

สปอร์ (encyst) พร้อมกับการสร้าง cell wall ที่มีส่วนประกอบของ cellulose ทันที (ภายใน 5-10 นาที) สปอร์ดังกล่าวพร้อมที่จะงอกเส้นใยเข้าทำลายพืชโดยตรง

Phytophthora ส่วนมากมีการปรับตัวในการเป็นปรสิตของโรคพืชได้อย่างดี ในวงจรชีวิตมีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ประมาณ 50% ของ Phytophthora species ที่พบทั้งหมดเป็นกลุ่มที่ผสมตัวเอง (homothallic) เมื่อเข้าทำลายพืชแล้วจะมีการผสมตัวเองเกิด oospores ผนังหนาอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช ส่วนที่เหลือเป็นกลุ่มที่มีคู่ผสมต่างกัน (heterothallic) ระหว่าง 2 mating type (A1 และ A2) ที่ผสมเข้ากันได้ จึงจะเกิด oospores และ oospore เหล่านี้มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีเยี่ยม สามารถมีชีวิตอยู่ได้นานหลายปีในเศษซากพืช หรืออินทรีย์วัตถุในดิน เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีอายุยาวกว่าสปอร์ชนิดอื่นๆ

นอกจาก oospores แล้ว asexual spores ที่ถูกสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากบนเนื้อเยื่อของพืชอาศัย เช่น sporangia ของบางชนิด (species) เมื่อแก่หรือมีอายุ สปอร์นี้จะหลุดออกจากก้านได้ง่าย ทำให้สามารถแพร่กระจายไปได้ตามสายลมได้ไกล ส่วน sporangia พวกที่ไม่หลุดจากก้านจะอาศัยน้ำเป็นตัวกลางพาไปในลักษณะของสปอร์ที่เคลื่อนที่ด้วยหาง หรือ zoospores ที่มี 2 หาง ว่ายน้ำไปตามแรงดึงดูดของสารเคมีที่ผลิต หรือปล่อยออกมาจากรากพืชอาศัยที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ทำให้ Phytophthora เปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างได้ดีตามสภาพแวดล้อมในหลายรูปแบบ ในวงจรชีวิตมีสปอร์ 4 ชนิด คือ sporangia, zoospores, chlamydospores และ oospores เชื้อ Phytophthora ส่วนมากเป็นพวกที่อาศัยอยู่ในดินบนเศษซากพืช บางระยะเวลาเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกับราก และโคนต้นพืช โดยมี oospores และ chlamydospores เป็นส่วนที่อยู่ข้ามฤดู Phytophthora มีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากรากทั่วไปหลายประการดังนี้

1. สารปฏิชีวนะ polyene (Pimaracin) มีประสิทธิภาพในการควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของราชนิดอื่นๆ ได้ ยกเว้น Phytophthora ฉะนั้นจึงได้ใช้สารปฏิชีวนะตัวนี้ผสมในอาหารสังเคราะห์เพื่อแยก Phytophthora โดยเฉพาะ

2. โดยธรรมชาติตลอดระยะการเจริญของเส้นใย Phytophthora อยู่ในลักษณะ diploid (2n) มีเพียงระยะสั้นๆ ที่เป็น haploid (n) คือการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ของ antheridium (เพศผู้) และ oogonium (เพศเมีย) ก่อนผสมกันเกิด oospore ซึ่งแตกต่างจากราอื่นๆ ที่เป็น haploid

3. การศึกษาส่วนประกอบของผนังเซลล์ (cell wall) ของ Phytophthora มีส่วนประกอบของ cellulose และ β -glucan ซึ่งแตกต่างไปจากราอื่นๆ ซึ่งมี chitin เป็นส่วนประกอบสำคัญ

4. Phytophthora ไม่สามารถสังเคราะห์ sterols ด้วยตัวเองเหมือนราชนิดอื่นๆ จึงต้องการ sterols จากภายนอกมาใช้ในการเจริญเติบโต และสร้างเซลล์สืบพันธุ์

5. การเกิดวิวัฒนาการของกลุ่ม Oomycetes รวมทั้ง Phytophthora มีความใกล้ชิดกับพวกสาหร่าย (heterokont algae) มากกว่าราจึงทำให้พวกนี้จัดอยู่ในสิ่งมีชีวิตคล้ายรา เพราะลักษณะของ zoospore มี 2 หาง ขนาดความยาวไม่เท่ากัน และมีรูปร่างภายนอกแตกต่างกัน ซึ่งเป็นลักษณะประจำที่สืบทอดมาจากบรรพบุรุษที่มีวิวัฒนาการมาด้วยกัน และจากผลการศึกษาวิจัยในระดับโมเลกุลเรื่อง

ความหือ่นของการเรียงลำดับของ small subunit ribosomal RNA ซึ่งยืนยันจากการวิเคราะห์ ส่วนประกอบในระดับโมเลกุลของกลุ่ม Oomycetes มีความแตกต่างไปจากราแต่มีความใกล้เคียงกับ heterokont มากกว่า



รูปที่ 3. ลักษณะอาการของส้มน้ที่ถูกเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เข้าทำลาย โดยเกิดอาการเปลือกแตกยางไหล (ซ้าย) พบระบาดรุนแรงที่อำเภอสารภี และอาการรากเน่าของส้มน้ (ขวา) จากสวนส้มน้ปางเสี้ยว (ถ่ายภาพวันที่ 15 กันยายน 2560)

โรครินนึ่งส้มน้ (Citrus greening หรือ huanglongbing, HLB) หรือ yellow dragon disease เป็นโรคของส้มน้ที่สำคัญมากโรคหนึ่ง มีรายงานพบใน Florida เมื่อปี ค.ศ. 2005 (Bove, 2006) โรค Greening มีสาเหตุเกิดจาก bacteria ที่เจริญอยู่ในท่ออาหาร (phloem) ของพืชอาศัย โรคนี้ทำลายส้มน้ได้ทุกสายพันธุ์ ทำให้ผลผลิตลดลง โดยอาจทำให้ต้นส้มน้โทรมและตายได้ มีรายงานพบการระบาดและทำลายผลผลิตของส้มน้ที่ Florida, Asia, Africa, the Arabian Peninsula และ Brazil โรค Citrus greening แพร่ระบาดโดยเพลี้ยไก่แจ้ (Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*) (รูปที่ 4) ที่ไม่ใช่แมลงพื้นถิ่นของ Florida เมื่อส้มน้เป็นโรค Greening จะไม่มีทางรักษา โดยต้นพืชจะทรุดโทรมและตายภายใน 2-3 ปี โรคนี้ไม่ติดต่อถึงคนและสัตว์ ปัจจุบันมีรายงานยืนยันว่าพบโรค Citrus greening ใน 32 ประเทศ (da Graça and Korsten, 2004; Gottwald *et al.*, 2007)

ลักษณะอาการ (Symptoms) พบอาการได้ตลอดปี แต่พบได้ง่ายในช่วงเดือนกันยายนถึงมีนาคม อาการของโรคพบได้ทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน ได้แก่ ใบ กิ่ง และผล เมื่ออาการโรคพัฒนาไปถึงที่สุดจะทำให้ต้นทรุดโทรม (decline) ใบแสดงอาการต่างเหลืองแบบ blotchy mottle (รูปที่ 5), อาการเส้นใบเป็นสีเหลือง (yellow veins), เส้นใบอุดตัน (vein corking) หรือ green islands



รูปที่ 4. ตัวเต็มวัยของเพลี้ยไค้ หรือ Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) ที่ดูดกินบนพืชอาศัย



รูปที่ 5. ลักษณะอาการโรคกรีนนิ่งบนใบส้มเปรี้ยวเปรียบเทียบระหว่างใบที่เป็นโรคกับปกติ (ภาพบน) (Gale, 2013) ลักษณะอาการต่างเหลืองที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร (ล่างซ้าย) เทียบกับใบต่างเหลืองที่เป็นโรคลักษณะ blotchy mottle (ล่างขวา) (Citrus research and education center, 2003)

สำหรับอาการที่พบบนผล (Fruit symptoms) พบอาการบิดเบี้ยว (รูปทรงที่สองด้านเจริญไม่เท่ากัน) ผลมีสีเขียวขนาดเล็กผิดรูป เมื่อผ่าดูพบเมล็ดภายในลีบ สีผิวอาจเป็นสีเขียวครึ่งผล (รูปที่ 6) และผลมีรสเค็มและขม เป็นต้น ส่วนอาการที่พบบนต้นส้ม (Tree appearance) (รูปที่ 7) จะพบยอดเหลือง (Yellow shoots), กิ่งแห้งตายจากยอดลงมา (Twig dieback), ต้นแคระแกรน (Stunting),

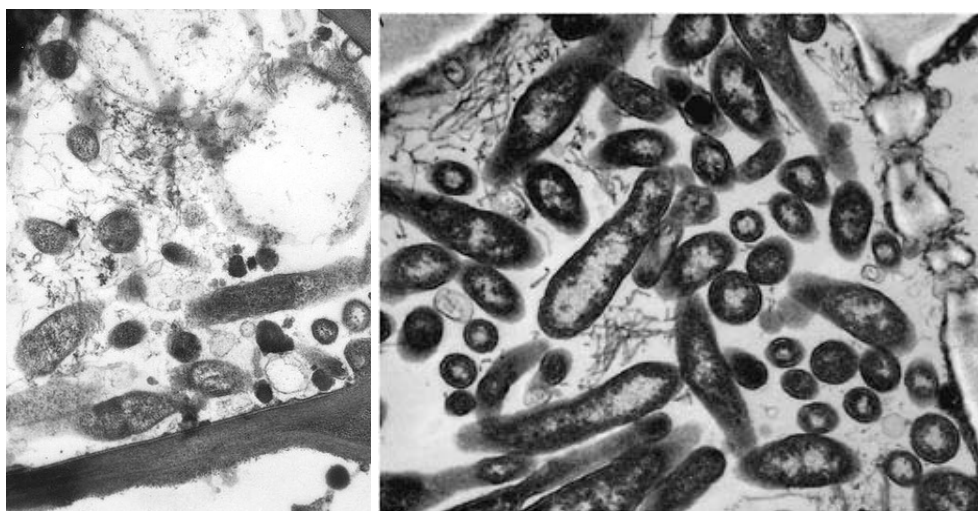
ออกดอกนอกฤดู (Off-season bloom) และในท้ายสุดเป็นสาเหตุให้ต้นทรุดโทรม (Overall tree decline) และอาจยืนต้นตายได้ และเมื่อนำส่วนท่ออาหารของส้มที่เป็นโรคมাত্রาตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จะพบเชื้อแบคทีเรียในส่วนของท่ออาหาร (phloem) (รูปที่ 8)



รูปที่ 6. ลักษณะอาการโรคกรีนนิ่งบนส้ม โดยผลบิดเบี้ยว (ภาพบนซ้าย) เมล็ดลีบ (บนขวา) (Brown, 2010) และสีผิวของผลไม่เหลืองสม่ำเสมอ (Wikipedia, 2019) แต่อาจเป็นรอยเขียวซึ่งเป็นที่มาของชื่อโรคว่า greening (ภาพล่างทั้งซ้ายและขวา) (Gomez H, 2010)



รูปที่ 7. ลักษณะอาการโรคกรีนนิ่งของต้นส้ม โดยอาการยอดเหลือง (ซ้าย) (Floyd and Krass, 2006) และมีกิ่งแห้งตายจากยอด (ขวา) (Allen, 2015)



รูปที่ 8. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter* sp. ที่พบในท่ออาหาร (phloem) ของต้นส้มที่ถูกเชื้อแบคทีเรียนี้เข้าทำลาย (Garnier and Bové, 1996)

สำหรับในภาคเหนือของไทย โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงใหม่มีรายงานว่ามีการปลูกส้มเขียวหวานเป็นเวลามากกว่า 40 ปี โดยพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในเขตอำเภอฝาง แม่สาย และไชยปราการ ทั้งนี้เป็นเพราะสภาพภูมิอากาศของทั้งสามอำเภอมีอากาศเย็น ทำให้ผลส้มมีผิวสีเหลืองเข้ม มีรสหวานหอม จึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภคมาก (อำเภอพรรณ และคณะ, 2542; อภิชาติ, 2545) ผลผลิตจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกจำนวนมาก ซึ่งจากสถิติที่รวบรวมโดยกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกส้มอำเภอฝาง-ไชยปราการในปี พ.ศ. 2550 พบว่าได้มีการขยายพื้นที่ปลูกส้มมากถึง 5 แสนไร่ โดยระยะแรกพื้นที่ส่วนใหญ่ที่อยู่ตามเนินเขาซึ่งมีสภาพดินที่สมบูรณ์ดี ยังไม่พบปัญหาเรื่องโรคและแมลงมากนัก ต่อมาเมื่อมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่างๆ เช่น ปุ๋ยเคมี สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลงและเชื้อรา อย่างต่อเนื่องและใช้ไม่ถูกวิธี จึงก่อให้เกิดปัญหาการสะสมสารเคมีดังกล่าวและเป็นผลทำให้ดินมีสภาพความเป็นกรดจัด (pH 3.0-4.5) ทำให้เกิดการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ที่เข้าทำลายส่วนรากและโคนต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรครินนิ่งส้มคือเชื้อ *Candidatus Liberobacter asiaticus* ที่มีเพลี้ยไก่แจ้ (Asian citrus psyllid) เป็นพาหะนำโรค โดยโรคนี้ยังสามารถแพร่ระบาดได้โดยติดไปกับกิ่งพันธุ์ ดังนั้นเมื่อมีการขยายพื้นที่ปลูกส้มดังกล่าว ทำให้เกิดการระบาดของเชื้อสาเหตุออกไปอย่างกว้างขวาง ประกอบกับเมื่อมีผลผลิตออกมาเป็นจำนวนมากเป็นผลให้ราคาส้มตกต่ำ ทำให้รายได้ไม่คุ้มค่าต่อการบำรุงรักษาต้นส้ม จึงเกิดการปล่อยทิ้งให้ต้นส้มทรุดโทรมและกลายเป็นแหล่งเพาะเชื้อจำนวนมาก และมีผลทำให้เกษตรกรล้มเลิกการปลูกส้มไป จนในปัจจุบันพบว่ามีสวนส้มเหลืออยู่ในพื้นที่ของสามอำเภอนี้เพียงประมาณ 2 หมื่นไร่เท่านั้น (ข้อมูลจากกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกส้มฝาง-ไชยปราการ, 2557)

ส่วนแนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มของไทยในอดีตที่ผ่านมา พบว่ามีนักวิจัยหลายท่าน และจากหลายหน่วยงานได้พยายามศึกษาและหาแนวทางแก้ไข แต่เนื่องจากโรคต้นโทรมของส้มมีสาเหตุเกิดจากหลายปัจจัย ทำให้การแก้ไขไม่ตรงจุด หรือไม่แม่นยำ ดังจะพบว่างานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปบริหารจัดการโรคกรีนนิ่งส้มเป็นหลัก ด้วยการทำลายต้นส้มที่เป็นโรค และปลูกทดแทนด้วยต้นกล้าที่ปลอดโรคและควบคุมแมลงพาหะ แต่ก็ยังไม่ได้ผลทำ ซึ่งในท้ายที่สุดจึงเกิดการนำเทคนิคการฉีดสารปฏิชีวนะเข้าสู่ต้นส้มจากประเทศไต้หวันมาใช้ และกลายเป็นวิธีหลักที่เกษตรกรชาวสวนส้มใช้อยู่ในขณะนี้ จนอาจกล่าวได้ว่าเกษตรกรเกือบร้อยละเก้าได้หันมาใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin เป็นหลักในการฉีดเข้าสู่ต้นส้ม (รูปที่ 9) เพื่อรักษาอาการต้นโทรมดังกล่าว



รูปที่ 9. ลักษณะวิธีการที่เกษตรกรชาวสวนส้มใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin ในการฉีดเข้าสู่ท่ออาหาร (phloem) ของต้นส้ม (ซ้าย) และสภาพความเป็นกรดจัดของดินที่มีค่า pH = 3.0 ในสวนส้มดังกล่าว (เข็มวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในตำแหน่งซ้ายสุด) (ขวา)

สำหรับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. นั้น จากการตรวจสอบแปลงปลูกส้มในหลายพื้นที่ของผู้วิจัย พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ใช้ควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูกไม่ได้ผล ถึงแม้ว่าผลการทดสอบเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในจานเพาะเชื้อจะให้ผลดี แต่ในสภาพแปลงปลูกส้มที่มีดินเป็นกรดจัด (pH 3.0) จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทำให้เชื้อรานี้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในแปลงปลูกส้มได้

ด้วยเหตุนี้ คณะผู้วิจัยจะได้วางแผนแนวทางในการป้องกันกำจัดและควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม โดยมุ่งที่จะทำควบคู่ไปกับการปรับปรุงดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของต้นส้ม โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน การเพิ่มจุลินทรีย์ปฏิกิริยาต่างๆ เช่น เชื้อแอสคิโนมัยซิส ยีสต์ และ *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกอื่นๆ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ หรือสร้างสารที่เป็นอิลิซิเตอร์ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในต้นส้ม ที่จะช่วยให้การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ซึ่งจะช่วยให้การแก้ไขปัญหาโรคต้นโทรมของส้มเป็นไปอย่างครบวงจรและยั่งยืนต่อไป

บทที่ 3

การสำรวจอาการต้นโทรมของส้มในพื้นที่อำเภอไชยปราการ ฝาง และแม่อาย The Survey of Citrus Decline Symptom in the Chai Prakan, Fang and Mae Ai District

ชัยวัฒน์ โตอนันต์¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, เกษม สร้อยทอง², โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิน¹ และฐิติมา
วงศ์วาน¹

Chaiwat To-anun¹, Ratchadawan Cheewangkoon¹, Kasem Soyotong², Robert J.
McGovern¹ and Thitima Wongwan¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200

²Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok 10520

บทคัดย่อ

จากการสำรวจแปลงทดลองในสวนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ จำนวน 4 ราย ในพื้นที่อำเภอไชยปราการ ฝาง และแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าทั้ง 4 สวน คือสวนสวนปางเสี้ยว สวนสิทรวงศ์ สวนปู้หมื่น และสวนสมเกียรติ มีเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกันทั้งหมด และจากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม และจากการประเมินความรุนแรงของโรคในแต่ละสวน ทำให้พบว่าการจัดการแปลงปลูก อายุต้นส้ม สภาพดิน-น้ำ สภาพแวดล้อมและสภาพอากาศ และการใช้สารเคมีเกษตรต่างๆ มีผลต่อระดับความรุนแรงของการเกิดโรคต้นโทรม

คำสำคัญ: โรคต้นโทรมของส้ม โรคกรีนนิ่ง โรครากเน่าของส้ม

Abstract

From the survey of the experimental garden plot of 4 participating farmers in the area of Chai Prakan, Fang and Mae Ai district, Chiang Mai province, it was found that in Pang Seaw, Sithawong, Phu Meun and Somkait orchards, all the symptoms are decline. The assessing the severity of the decline disease and from assessing the severity of disease in each garden found that the management of planting, age, citrus tree, soil condition, water, environment, weather and the use of various agricultural chemicals affected the severity of the disease.

Keywords: Citrus decline disease, Greening disease, Citrus root rot

คำนำ

ในภาคเหนือของไทย โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงใหม่มีรายงานว่ามีการปลูกล้มเขียวหวานเป็นเวลามากกว่า 40 ปี โดยพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในเขตอำเภอฝาง แม่สาย และไชยปราการ พบการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ที่เข้าทำลายส่วนรากและโคนต้น และตรวจพบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคกรีนนิ่งส้ม คือเชื้อ *Candidatus Liberobacter asiaticus* ที่มีเพลี้ยไก่แจ้ (Asian citrus psyllid) เป็นพาหะนำโรค โดยสามารถแพร่ระบาดได้โดยติดไปกับกิ่งพันธุ์ ซึ่งเชื้อสาเหตุดังกล่าวเมื่อเข้าทำลายร่วมกันจึงส่งผลให้ต้นส้มแสดงอาการต้นโทรม เมื่อมีการขยายพื้นที่ปลูกล้มดังกล่าว ทำให้เกิดการระบาดของเชื้อสาเหตุออกไปอย่างกว้างขวาง ประกอบกับเมื่อมีผลผลิตออกมาเป็นจำนวนมากเป็นผลให้ราคาล้มตกต่ำ ทำให้รายได้ไม่คุ้มค่าต่อการบำรุงรักษาต้นส้ม จึงเกิดการปล่อยทิ้งให้ต้นส้มทรุดโทรมและกลายเป็นแหล่งเพาะเชื้อจำนวนมาก และมีผลทำให้เกษตรกรล้มเลิกการปลูกล้มไป จนในปัจจุบันพบว่ามีสวนส้มเหลืออยู่ในพื้นที่ของสามอำเภอนี้เพียงประมาณ 2 หมื่นไร่เท่านั้น (ข้อมูลจากกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกล้มฝาง-ไชยปราการ, 2557) ประกอบกับเกษตรกรเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ได้หันมาใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin เป็นหลักในการฉีดเข้าสู่ต้นส้มเพื่อรักษาอาการต้นโทรม ด้วยเหตุนี้ คณะผู้วิจัยได้ลงพื้นที่ทำการสำรวจและประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม และได้วางแผนงานในการป้องกันกำจัดและควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม มุ่งที่จะทำควบคู่ไปกับการปรับปรุงดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของต้นส้ม โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน การเพิ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เช่น เชื้อแอคติโนมัยซิส ยีสต์ และ *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกอื่นๆ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ หรือสร้างสารที่เป็นอิลิซิเตอร์ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในต้นส้ม ที่จะช่วยให้การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ซึ่งจะช่วยให้การแก้ไขปัญหาโรคต้นโทรมของส้มเป็นไปอย่างครบวงจรและยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการสำรวจต้นส้มในแปลงเกษตรกรที่ร่วมโครงการเพื่อจัดทำแปลงทดลองและสาธิต โดยสำรวจถึงระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมของส้ม เก็บตัวอย่างโรคทั้งจากใบ และดินบริเวณรอบราก และรากที่แสดงอาการเน่าพร้อมกับการตรวจสอบสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของดินและเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารและตรวจหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน เพื่อประเมินการจัดการอย่างแม่นยำต่อไป มีเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการมีจำนวน 4 รายดังนี้

1. นายเจษฎา ศานนท์ สวนส้มปางเสี้ยว เลขที่ 150 หมู่ 14 ตำบลศรีดงเย็น อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 4 ปี)
 2. นายสุพจน์ วิสิทธิ์วงศ์ สวนส้มสิทธิ์ เลขที่ 96 หมู่ที่ 7 ตำบลสันตน์หมือ อำเภอแม่ฮ้อย จังหวัด เชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 10 ปี)
 3. นางศศิญาภรณ์ น้อยเรือง สวนส้มปู่หมื่น เลขที่ 302 หมู่ 4 ตำบลห้วยป่าซาง อำเภอแม่ฮ้อย จังหวัด เชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 25 ปี)
 4. สวนส้มสมเกียรติ ตำบลแม่คะ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ (ต้นส้มในแปลงทดลองอายุ 4 ปี)
- (แทน นายอุดม ปินทีโย สวนส้มอุดมพร เริ่มทำการเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ.2560)

การประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม

ทำการสำรวจแปลงสวนส้มที่ร่วมโครงการ และทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค และระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเป็นโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการของโรค}}{\text{จำนวนต้นส้มทั้งหมดในแปลงทดลองนั้น}} \times 100$$

จากนั้นทำการประเมินความรุนแรงของโรคจะประเมินในแต่ละต้นที่แสดงอาการโรคที่ระดับความรุนแรง 5 ระดับ ดังนี้

ระดับการเกิดโรค เปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม (%)

- | | |
|---|---|
| 0 | 0 = ไม่แสดงอาการต้นโทรม |
| 1 | 1-25% = แสดงอาการต้นโทรม |
| 2 | 26-50 % = แสดงอาการต้นโทรม |
| 3 | 51-75 % = แสดงอาการต้นโทรม โดยมีอาการตายจากยอดร่วมด้วย |
| 4 | 76 - 100 % = แสดงอาการต้นโทรมมากกว่าและมีอาการตายจากยอดเกือบทุกยอด รวมถึงอาการยืนต้นตาย |

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการสำรวจแปลงทดลองในสวนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ พบว่าทั้ง 4 แปลงทดลอง มีเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกันทั้งหมด คือไม่พบต้นที่ไม่แสดงอาการต้นโทรม (ตารางที่ 1) จากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงก่อนการทดลอง พบว่าต้นส้มในสวนจะไม่ปรากฏอาการต้นโทรมในระดับ 0 โดยสวนปางเสี้ยว พบต้นส้มที่แสดงอาการของโรคต้นโทรม ในระดับที่ 4 มากที่สุด คือ ร้อยละ 60.83 รองลงมาระดับ 3 อยู่ที่ ร้อยละ 20.83 สวนปู้หมื่นพบในระดับ 1 และ 2 คือ ร้อยละ 40.00 และ 40.56 ตามลำดับ สวนสิทธิวงค์ พบมากที่สุดในระดับที่ 3 คือ ร้อยละ 65.00 รองลงมาคือ ระดับที่ 1 ร้อยละ 22.50 และสวนสมเกียรติ พบมากที่สุดคือระดับที่ 2 ร้อยละ 64.06 และระดับที่ 1 ร้อยละ 21.88 และไม่พบต้นส้มที่แสดงอาการในระดับที่ 4 จากการประเมินความรุนแรงของโรคในแต่ละสวน ทำให้พบว่าการจัดการแปลงปลูก อายุต้นส้ม สภาพดิน-น้ำ สภาพแวดล้อมและสภาพอากาศ และการใช้สารเคมีเกษตรต่างๆ มีผลต่อการเกิดโรคต้นโทรมในแต่ละระดับ

ตารางที่ 1 ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรมในแปลงก่อนการทดลอง

ที่	แปลงทดลอง	จำนวนต้น	เปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรมในแปลงก่อนการทดลอง
1	สวนส้มปางเสี้ยว	120	100 (พ.ย. 59)
2	สวนส้มปู้หมื่น	180	100 (พ.ย. 59)
3	สวนส้มสิทธิวงค์	120	100 (พ.ย. 59)
4	สวนส้มสมเกียรติ	64	100 (เม.ย. 60)

สรุป

จากการสำรวจแปลงทดลองในสวนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ จำนวน 4 ราย ได้แก่ สวนส้มปางเสี้ยว สวนส้มสิทธิวงค์ สวนส้มปู้หมื่น สวนส้ม พบว่าทั้ง 4 สวน มีเปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกันทั้งหมด คือไม่พบต้นที่ไม่แสดงอาการต้นโทรมเลย อีกทั้งยังพบว่าวิธีการจัดการแปลง อายุต้นส้ม สภาพดิน-น้ำ สภาพแวดล้อมและสภาพอากาศ และการใช้สารเคมีเกษตรต่างๆ ส่งผลต่อระดับความรุนแรงของการเกิดโรคต้นโทรม

บทที่ 4

การตรวจหาเชื้อโรคกรีนนิ่งในส้มในพื้นที่อำเภอไชยปราการ ฝาง และแม่อาย The Survey of Citrus Decline Symptom in the Chai Prakan, Fang and Mae Ai District

ปริญญ์ น้อยเรือง¹ และอำพล พรหมเมศรี¹
Parinn Noireung¹ and Amphol Prommate¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

เมื่อทำการสุ่มเก็บใบส้มที่แสดงอาการผิดปกติ ได้แก่อาการใบเหลืองต่าง เส้นใบเขียว ใบเรียวเล็ก เนื้อใบแข็ง ขรุขระบางส่วน จากสวนปางเสี้ยว ปู่หมื่น และสิทรวงศ์ มาทำการตรวจการเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* สาเหตุโรคกรีนนิ่งด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction พบเชื้อดังกล่าวในตัวอย่างที่เก็บจากสวนปางเสี้ยว 95.83 เปอร์เซ็นต์ สวนสิทรวงศ์ 83.33 เปอร์เซ็นต์ และสวนปู่หมื่น ตรวจพบ คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และได้ทำการตรวจเพิ่มในใบที่ไม่แสดงอาการ สามารถตรวจพบเชื้อ 87.50 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าอาการของโรคกรีนนิ่งมีความหลากหลายสูง ไม่มีรูปแบบชัดเจน โดยอาการสำคัญคือทำให้เนื้อใบบางส่วนของส้มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงขีด เส้นกลางใบและเส้นแขนงมีสีเขียวเข้มอยู่ โดยส่วนมากอาการพบที่ใบอ่อน ใบมีขนาดเล็กลง และหนากว่าปกติ อีกทั้งยังเชื้อแบคทีเรียสามารถเป็นเชื้อแฝงในใบที่ไม่แสดงอาการของโรคอีกด้วย โดยเชื่อดังกล่าวมีการระบาดและกระจายตัวอยู่ทั่วไปในพื้นที่ทำการทดลอง ทั้งในส้มที่มีอายุ 3-4 ปี (สวนปางเสี้ยว) และต้นส้มที่มีอายุมากกว่า 10 ปี (สวนปู่หมื่นและสิทรวงศ์) แสดงว่าเชื่อดังกล่าวมีการพัฒนาอยู่ในพื้นที่มาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งทำให้มีโอกาสที่จะติดไปกับต้นกล้าพันธุ์ที่เกิดจากเมล็ดและกิ่งตอนได้

คำสำคัญ: *Candidatus Liberibacter asiaticus*

Abstract

Citrus leaves were collected randomly from Pang Seaw, Phu Muen and Sithawong. Unusual symptoms including yellow leaves, green leaves, slender leaves, thin, hard, rough leaves to investigate the bacterial infection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in greening by Polymerase Chain Reaction technique. It was found that 95.83 percent of specimens collected from Pang Siang Park Ten thousand were detected, 100 percent, and were added to the leaves without symptoms. Able to detect 87.50 percent infection, indicating that the symptoms of greening disease are highly diverse. No clear pattern the main symptom is that the flesh of some of the citrus leaves turns yellow until pale. The center line, leaves and branches are dark green. Most of the symptoms are found in young leaves. The leaves are smaller and thicker than usual. Also, bacteria can become latent in the leaves that do not show symptoms of the disease as well. The infection is spread and is spread throughout the experimental area. Both in Pang Seaw (3-4 years tree) and Phu Muen and Sithawong (more than 10 yearstree) show that the infection has developed in the area for a long time. Which gives the opportunity to stick to seedlings, both from seed and branch.

Keywords: *Candidatus Liberibacter asiaticus*

คำนำ

ส้มเขียวหวานเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปัจจุบันพื้นที่การปลูกส้มเขียวหวานในเขตภาคเหนือของไทยได้ลดลงอย่างต่อเนื่องโดยมีสาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* สาเหตุโรครินนิ่ง โดยมีแมลงพาหะคือ เพลี้ยไค้แจ้ส้ม (Asian citrus psyllid) เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรครินนิ่งนี้ไม่สามารถใช้การจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาได้ และอาการของโรครินนิ่งที่แสดงบนต้นส้มมีอาการที่คล้ายกับการขาดธาตุอาหารของพืชซึ่งยากต่อการตรวจสอบ ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้าน molecular มาใช้ในการตรวจสอบและระบุเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง ซึ่งจะสามารถเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างชัดเจน

อุปกรณ์และวิธีการ

สุ่มเก็บใบส้มที่แสดงอาการผิดปกติ ได้แก่อาการใบเหลืองต่าง เส้นใบเขียว ใบเรียวเล็ก เนื้อใบแข็ง ขรุขระบางส่วน จากสวนปาล์วยาว ปุ่หมื่น และสิทรวงศ์ จำนวนสวนละ 24 ต้น (รูปที่ 10) โดยเลือกตัวแทนซ้ำละ 2 ต้นที่แสดงอาการโรคมามากที่สุด และตัวอย่างใบส้มที่มีลักษณะปกติจำนวน 8 ต้น จำนวนต้นละ 50 ใบ เก็บใส่ถุงพลาสติกที่แยกตัวอย่างชัดเจน เก็บในกล่องรักษาความเย็นเสมอ ก่อนนำกลับมาห้องปฏิบัติการ จากนั้นทำการล้างใบให้สะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 25-27 องศาเซลเซียส เมื่อใบแห้งจึงทำการตัดเก็บเฉพาะส่วนของเส้นกลางใบในถุงกระดาษแยกตามตัวอย่างต้น และเก็บในกล่องที่บรรจุซิลิกาเจลดูดความชื้นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมใช้ในการตรวจหา DNA ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่ง *Candidatus Liberibacter asiaticus* ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction ต่อไป

การแยกสกัดดีเอ็นเอจากใบส้มที่แสดงอาการของโรคมตัดเอาเฉพาะเส้นกลางใบ แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide) มีขั้นตอนดังนี้ นำใบส้มที่แสดงอาการมาล้างให้สะอาด ตัดเอาเฉพาะเส้นกลางใบมา 0.5 กรัม แล้วตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยกรรไกรที่สะอาด นำไปใส่ในโรงที่แช่เย็นแล้วเติม grinding buffer ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10-20 นาที แล้วจึงบดให้ละเอียด เทน้ำคั้นที่ได้ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเทสารละลายทิ้ง เก็บตะกอนแล้วเติมสารละลาย CTAB ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ละลายตะกอนให้หมด โดยนำไป vortex แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย chloroform/isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 g นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ได้สารละลายที่แยกเป็น 2 ชั้น ให้เก็บสารละลายใสส่วนบนใสในหลอดใหม่ เติม isopropanol ปริมาตรที่เท่ากัน ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 g นาน 15 นาที จากนั้นเทสารละลายทิ้ง แล้วล้างตะกอน ดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 g นาน 5 นาที ดูดเอา ethanol ออก และทำตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้สารละลาย ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

5X Green GoTaq® Reaction Buffer	5	ไมโครลิตร
10 mM PCR Nucleotide	2.5	ไมโครลิตร
25 mM MgCl ₂	2.5	ไมโครลิตร
10 mM forward primer	1	ไมโครลิตร
10 mM reward primer	1	ไมโครลิตร
GoTaq DNA Polymerase	0.15	ไมโครลิตร
50 ng/μl template DNA	1	ไมโครลิตร
Nuclease-free water	11.85	ไมโครลิตร
Total	25	ไมโครลิตร

ตารางที่ 2. Primers ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีนในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus*

Primer	Sequence (5'→3')
LJ900f	GCCGTTTTAACACAAAAGATGAATATC
Lj900r	ATAAATCAATTTGTTCTAGTTTACGAC
OL1	GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA
OL2c	GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT
rbclLa-F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
rbclLa-R	GTAAAATCAAGTCCACCRCG

primers OL1/OL2 สำหรับเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน 16S rDNA ของแบคทีเรีย Lj900f/Lj900r สำหรับเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *hyv_I/hyv_{II}* ของแบคทีเรีย และ primer rbclLa-F/rbclLa-R เพิ่มปริมาณยีน Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase ของพืช โดยเงื่อนไขของปฏิกิริยา ดังนี้

initiated denaturation	ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
denaturation	ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
annealing	ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
elongation	

- OL	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
- Lj900	ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที
final extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างใบส้มที่แสดงอาการผิดปกติทั้ง 3 ส่วน พบว่าใบส้มจากสวนปางเสี้ยวแสดงอาการต่างเหลืองมากที่สุด โดยเส้นกลางใบและเส้นแขนงยังคงมีสีเขียวปกติ รองลงมาคือสวนปู้หมื่น และสิทรวงศ์ตามลำดับ เช่นเดียวกับรูปร่างและขนาดของใบส้มที่พบว่าส้มในสวนปางเสี้ยวมีขนาดเล็ก ใบหนา ตั้งชี้ขึ้น และเรียวแหลมที่สุด รองลงมาคือสวนปู้หมื่น และสิทรวงศ์ตามลำดับ

จากการตรวจสอบหาเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* สาเหตุโรครินนิง ในใบที่เก็บมาจากแปลงทดลองของสวนปางเสี้ยว สิทรวงศ์ และปู้หมื่น สวนละ 24 ตัวอย่าง พบว่า สวนปางเสี้ยว ตรวจพบ 23 ตัวอย่าง คิดเป็น 95.83 เปอร์เซ็นต์ สวนสิทรวงศ์ ตรวจพบ 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 83.33 เปอร์เซ็นต์ สวนปู้หมื่น ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิง 24 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และใบที่ไม่แสดงอาการ ตรวจพบเชื้อสาเหตุ 7 ตัวอย่าง คิดเป็น 87.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และ (รูปที่ 11-14) ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าอาการของโรครินนิงมีความหลากหลายสูง ไม่มีรูปแบบชัดเจน โดยอาการสำคัญคือทำให้เนื้อใบบางส่วนของส้มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงซีด เส้นกลางใบและเส้นแขนงมีสีเขียวเข้มอยู่ โดยส่วนมากอาการพบที่ใบอ่อน ใบมีขนาดเล็กลงและหนากว่าปกติ อีกทั้งยังเชื้อแบคทีเรียสามารถเป็นเชื้อแฝงในใบที่ไม่แสดงอาการของโรคอีกด้วย โดยเชื่อกันว่ามีการระบาดและกระจายตัวอย่างทั่วไปในพื้นที่ทำการทดลอง ทั้งในส้มที่มีอายุ 3-4 ปี (สวนปางเสี้ยว) และต้นส้มที่มีอายุมากกว่า 10 ปี (สวนปู้หมื่นและสิทรวงศ์)



รูปที่ 10. ลักษณะใบส้มที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุกรีนนิ่งที่พบในแปลงทดลอง

ก. ใบที่ไม่แสดงอาการเหลือง หรือต่าง

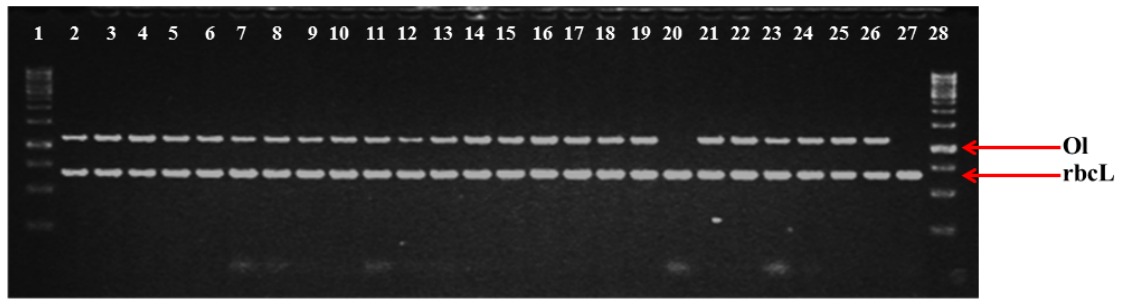
ข.-ฉ ใบที่แสดงอาการต่างบริเวณเนื้อใบในระดับต่างๆ

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่งของตัวอย่างส้มจากสวน ปุ๋หมื่น สิทธวงศ์ และปางเสี้ยว

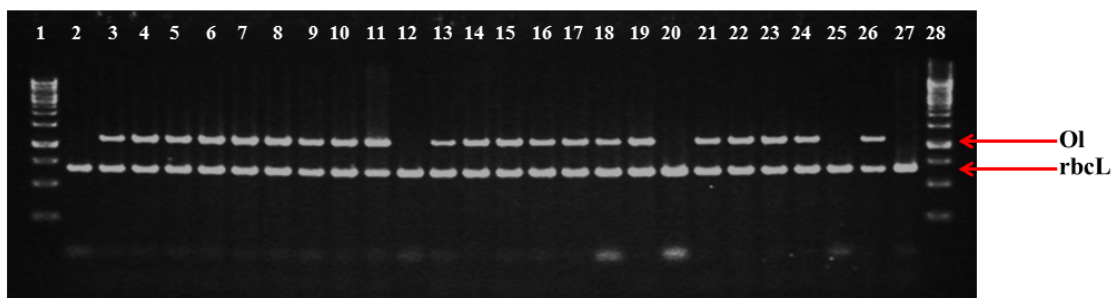
ที่	สวน	ผลวิเคราะห์ตัวอย่าง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	ปางเสี้ยว	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
2	สิทธวงศ์	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
3	ปุ๋หมื่น	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	ใบปกติ	+	+	+	-	+	+	+	+																

+ Detected Cause Bacteria

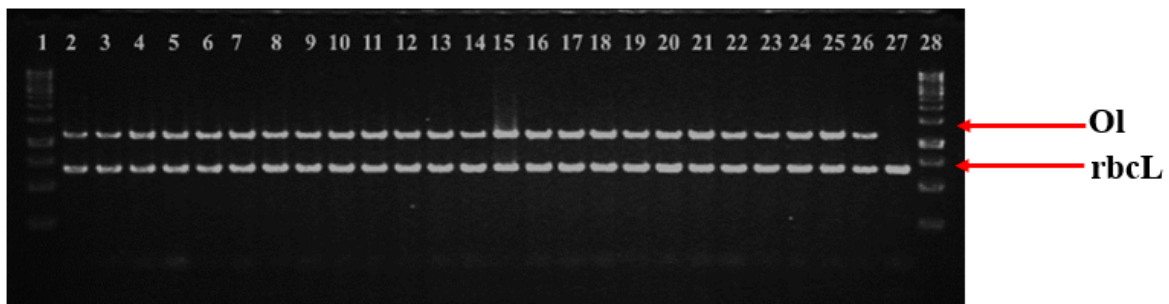
- Non detected Cause Bacteria



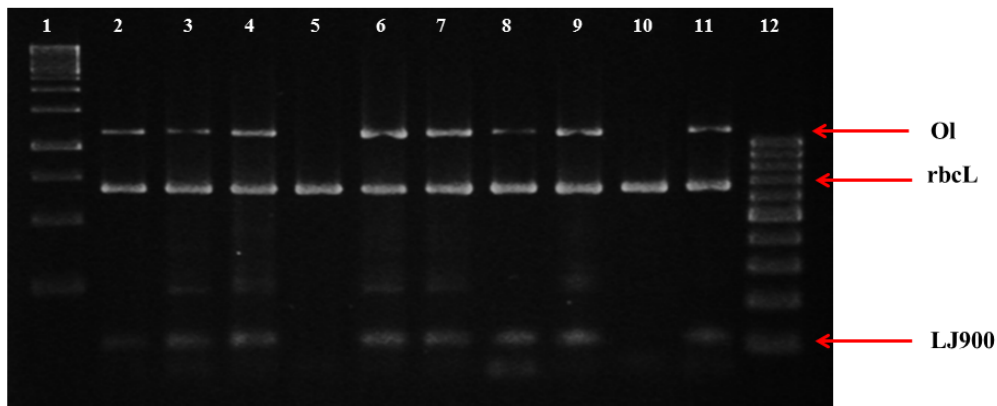
รูปที่ 11. Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของดีเอ็นเอที่เพ่งปริมาณด้วย PCR ของตัวอย่างส้มสวนปางเสี้ยว แถวที่ 1 และ 28 = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb, แถวที่ 2-25 = ตัวอย่างส้มจากสวนปางเสี้ยว, แถวที่ 26 = positive control, แถวที่ 27 = negative control



รูปที่ 12. Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของดีเอ็นเอที่เพ่งปริมาณด้วย PCR ของตัวอย่างส้มสวนสิทธิวงค์ แถวที่ 1 และ 28 = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb, แถวที่ 2-25 = ตัวอย่างส้มจากสวนสิทธิวงค์, แถวที่ 26 = positive control, แถวที่ 27 = negative control



รูปที่ 13. Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของดีเอ็นเอที่เพ่งปริมาณด้วย PCR ของตัวอย่างส้มสวนปู่หมื่น แถวที่ 1 และ 28 = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb, แถวที่ 2-25 = ตัวอย่างส้มจากสวนปู่หมื่น, แถวที่ 26 = positive control, แถวที่ 27 = negative control



รูปที่ 14. Gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ของดีเอ็นเอที่เพ็งปริมาณด้วย PCR ของตัวอย่างส้มปกติ แถวที่ 1 และ 12 = ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb, แถวที่ 2-9= ตัวอย่างส้มที่ไม่แสดงอาการต้นโทรม, แถวที่ 10 = negative control, แถวที่ 11 = positive control

การตรวจสอบโรค โดยนำส่วนของใบที่แสดงอาการ และใบพืชปกติมาตรวจด้วยวิธี PCR ด้วยคู่ primer OI1/OI2 rbcL-F/rbcL-r และ LJ900f/LJ900r พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 1140 bp ในตัวอย่างที่มีเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่ง และหากไม่พบแถบบ้างกล่าว แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจ ไม่พบเชื้อสาเหตุของโรครินนิ่ง ส่วน primer rbcL จะให้แถบดีเอ็นเอของพืช ขนาดประมาณ 700 bp

สรุป

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่งในส้มเขียวหวานพบเชื้อสาเหตุในตัวอย่างมากถึง 88.33-100 % ในพื้นที่ทดลอง แสดงว่าเชื้อดังกล่าวมีการพัฒนาอยู่ในพื้นที่มาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งทำให้มีโอกาสที่จะติดไปกับต้นกล้าพันธุ์ทั้งที่เกิดจากเมล็ดและกิ่งตอนได้ มักจะแสดงอาการต้นโทรม ใบป็นเหลืองสลับเขียว อาการคล้ายกับการขาดธาตุอาหารของพืช รวมถึงใบที่มีลักษณะปกติที่มีเชื้อแฝงอยู่ ซึ่งการตรวจสอบโดยการดูอาการที่แสดงบนในส้มจะไม่สามารถบอกได้ชัดเจนว่ามีเชื้อสาเหตุโรคหรือไม่ การใช้เทคนิค PCR เข้ามาตรวจสอบสามารถระบุเชื้อสาเหตุของโรคได้อย่างชัดเจน

บทที่ 5

การตรวจหาเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าส้ม

Detection of *Phytophthora* Causal Agent of Citrus Root Rot Disease

ชัยวัฒน์ โตอนันต์¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, เกษม สร้อยทอง² และฐิติมา วงษ์วาน¹

Chaiwat To-anun¹, Ratchadawan Cheewangkoon¹, Kasem Soyong² and Thitima Wongwan¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

²Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok 10520

บทคัดย่อ

จากการสำรวจอาการรากเน่าของส้มในพื้นที่ทดลองพบอาการดังกล่าว 100 เปอร์เซ็นต์ แต่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน โดยพบว่าสวนปางเสี้ยว และสวนปู้หมื่นแสดงอาการรุนแรงมากที่สุด และเมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุ สามารถแยกเชื้อราได้ ได้ 64 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นเชื้อ *Phytophthora* จำนวน 37 ไอโซเลท และเชื้อ *Pythium* จำนวน 27 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี detached leave method และ seedling test method พบว่าร้อยละ 60 ของเชื้อทั้งหมด สามารถก่อให้เกิดโรคได้ โดยมีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคแตกต่างกัน ดังนั้นจากผลการทดสอบดังกล่าวจึงสรุปว่าสาเหตุของโรคต้นโทรมในส้มเขียวหวานเกิดจากการร่วมทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter asiaticus* และเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* โดยปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของอาการในแปลงคือสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะคุณภาพดิน และการระบายน้ำในดิน ซึ่งเห็นได้ชัดเจนในสวนปางเสี้ยว ซึ่งดินมีปริมาณของหินปูนสูง แสดงอาการโทรมรุนแรงที่สุด

คำสำคัญ: *Phytophthora* *Pythium* โรครากเน่าโคนเน่าของส้ม

Abstract

According to the survey of citrus root rot in experimental area, 100 percent of these symptoms were found, and with different severity levels. The most severe symptom was been found in the crescent garden And Suan Pu Muen showed. And when isolating the cause can isolate fungi in 64 isolates by dividing *phytophthora* into 37 isolates and 27 isolates of *Pythium* and when testing the pathogenicity in the laboratory conditions with the detached leave method and seedling test method showed that 60% of all infections can cause disease with varying severity of disease. Therefore, the results of the test concluded that the cause of decline stem disease in tangerine was caused by the destruction of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Phytophthora* and *Pythium*. Especially the soil quality, drainage which is clearly seen in the crescent garden, which the soil has a high amount of limestone showing the most severe decline symptoms.

Keywords: *Phytophthora*, *Pythium*, Citrus root rot

คำนำ

โรครากเน่าโคนเน่าของส้มสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. สร้างความเสียหายอย่างมากในการปลูกส้มเขียวหวานในทางภาคเหนือของประเทศไทย การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคมักเข้าทำลายราก และลำต้นของส้ม ซึ่งเป็นส่วนที่ติดกับดินโดยมันเข้าทำลายต้นส้มในช่วงฤดูฝน เมื่อรากของส้มถูกทำลายโดยเชื้อสาเหตุโรคมักจะแสดงอาการต้นโทรม ใบเหลือง พบอาการตายจากยอดเข้าสู่ลำต้นแสดงถึงระบบรากถูกทำลาย ในการแยกเชื้อ จำแนกและระบุเชื้อสาเหตุโรคนั้นสำคัญอย่างยิ่งในการตรวจสอบ เนื่องจากเชื้อสาเหตุของอาการต้นโทรมมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย และจำเป็นต้องทำการทดสอบความสามารถในการก่อโรคเพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรคและเป็นแนวทางในการนำเชื้อที่ก่อโรคในส้มมาทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม

การแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม (รูปที่ 15) ทำได้โดยใช้วิธีเหี่ยล่อตามวิธีการของ Soytong *et al.* (1999) โดยนำส่วนของรากส้มที่เน่าหรือจากดินบริเวณรากส้มที่เน่า มาใส่จานเพาะเชื้อโดยใส่ให้หนาประมาณ 0.5 ซม. จากนั้นเทน้ำกลั่นหนึ่งชามเชื้อแล้วเทไปให้ท่วมรากหรือดินดังกล่าว โดยให้ท่วมประมาณ 0.5 ซม. แล้วจึงนำใบส้มปกติจากต้นส้มสายพันธุ์เดียวกับที่เป็นโรค (ต้นที่เป็นพืชอาศัย) มาฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 ซม. มาลอยผิวน้ำดังกล่าว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องตรวจผลทุกๆ 6 ชม. จะสังเกตเห็นบริเวณรอบชิ้นใบส้มมีเส้นใยเจริญโดยรอบ เมื่อนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบเส้นใยและ sporangia ของเชื้อราเจริญอยู่ นำชิ้นใบส้มมาล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง จากนั้นใช้ปลายเข็มเขี่ย เขี่ยเส้นใยบริเวณรอบใบส้มมาเพาะเลี้ยงใน water agar บ่มเชื้อไว้

ประมาณ 6 ซม. จากนั้นใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใยตรงขอบ colony ออกมาเลี้ยงในอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วัน

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ในระดับจิ้นส์ ด้วยลักษณะทางสัณฐาน

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้ มาศึกษาการสร้าง zoosporangium และการปล่อย zoospore โดยเลี้ยงในน้ำที่ใช้เมล็ดข้าวฟ่างเป็นเหยื่อล่อ (baiting) สร้าง zoosporangium และปล่อย zoospore ว่ายนํ้าออกมาเจริญเป็นโคโลนีใหม่บนเมล็ดข้าวฟ่าง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-14 วัน นำจานเลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* sp. มาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษารูปร่าง และลักษณะวัดขนาดของ zoosporangium ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และศึกษาคุณสมบัติอื่น ๆ นำมาประกอบการพิจารณาจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม โดยเปรียบเทียบกับเอกสารที่ใช้จำแนกเชื้อรา *Phytophthora* sp. ของ Stamps *et. al* (1990) จากนั้นจึงทำการศึกษายืนยันผลการจัดจำแนกด้วยเทคนิคทางอนุชีวโมเลกุลต่อไป

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าในส้ม

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบส้ม (detached leaf method)

นำเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. ที่แยกได้ มาศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับใบส้ม โดยดัดแปลงจากวิธีของ Soyong *et al.* (2005) โดยคัดเลือกใบส้มที่มีอายุใกล้เคียงกันหรือเก็บจากตำแหน่งเดียวกันจากแต่ละกิ่งของส้มในแปลงปลูก ใบมีอายุพอเหมาะคือไม่ใบอ่อนหรือแก่เกินไป นำมาทำความสะอาดและฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10%Clorox และล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำใบใส่ในจานเพาะเชื้อ (Petri dish) ที่มีกระดาษกรอง 2 ชั้นวางอยู่บนจานเติมนํ้ากลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไป 2 ml เพื่อรักษาความชื้น จากนั้นนำปลายเข็ม 5 เล่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการลนไฟ รอให้เย็นแล้วแทงที่ใบส้ม แล้วจึงตัดโคโลนีของเชื้อราสาเหตุด้วย cork borer (ขนาด 0.5 cm) มาวางบนแผ่น นำไป inoculate ใน moist chamber ที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตัวควบคุมใช้วันเปล่าวางแทนเชื้อราสาเหตุ จากนั้นประเมินความรุนแรงของเชื้อสาเหตุจาก disease index (DI) ดังนี้

ระดับ 1 = ใบพืชปกติไม่เกิดแผล

ระดับ 2 = แผลมีขนาดพื้นที่ 1-25%

ระดับ 3 = แผลมีขนาดพื้นที่ 26-50%

ระดับ 4 = แผลมีขนาด 50-75%

ระดับ 5 = แผลมีขนาดพื้นที่ 76-100%

การวางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) โดยแต่ละการทดลองมี 4 ซ้ำ คัดเลือกไอโซเลทของเชื้อราสาเหตุที่มีระดับความรุนแรงสูงสุดมาใช้ในการปลูกเชื้อกับต้นกล้าส้มในกระถางต่อไป

การทดสอบความสามารถในการก่อโรครากับกล้าส้ม (seedling test method)

เพาะต้นกล้าส้มในกระถางขนาด 4 นิ้ว ปลุกในดินที่ผสมปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 8:2 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำกระถางไปไว้ในเรือนปลูกทดลองเป็นเวลา 2 เดือน จึงทำการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ (zoospore) แขนวลอยของเชื้อราสาเหตุโรค ในอัตรา 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ตามวิธีการของ Chen *et al.* (1987) โดยการตัดปลายรากกล้าส้มแล้วจุ่มในสปอร์แขวนลอย จากนั้นจึงนำไปปลูกในกระถางอีกครั้ง สำหรับชุดควบคุมใช้จุ่มในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน การประเมินระดับความรุนแรงของโรค (Disease Severity Index, DSI) ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่พบอาการรากเน่า

ระดับ 2 = พบรากเน่า 1-25%

ระดับ 3 = พบรากเน่า 26-50%

ระดับ 4 = พบรากเน่า 50-75%

ระดับ 5 = พบรากเน่า 76-100%

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุดมาทดลองในการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมต่อไป

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากดินปลูกบริเวณรอบรากส้ม ที่แสดงอาการต้นโทรมจากตัวอย่างดินจำนวน 26 ตัวอย่าง สวนส้มปุ๋ยมัน 6 ตัวอย่าง สวนส้มสีทองวงศ์ 5 ตัวอย่าง สวนส้มปางเสี้ยว 9 ตัวอย่าง สวนส้มเกษตรกร (อ.ฟาง) จำนวน 6 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าได้ 64 ไอโซเลต (ตารางที่ 4) และเชื้อราสาเหตุโรคที่มีลักษณะเส้นใยเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แตกต่างกันไป (รูปที่ 16)



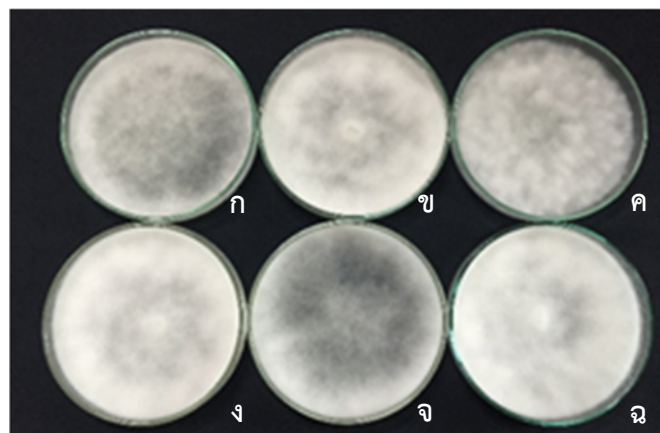
รูปที่ 15.: อาการรากเน่าของส้มในแปลงทดลอง

ก.-ค. รากแขนงของต้นส้มที่แสดงอาการเน่า

ง. รากฝอยของต้นส้มที่แสดงอาการรากเน่าถอดเปลือก

ตารางที่ 4. จำนวนเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. ที่แยกได้จากสวนส้ม

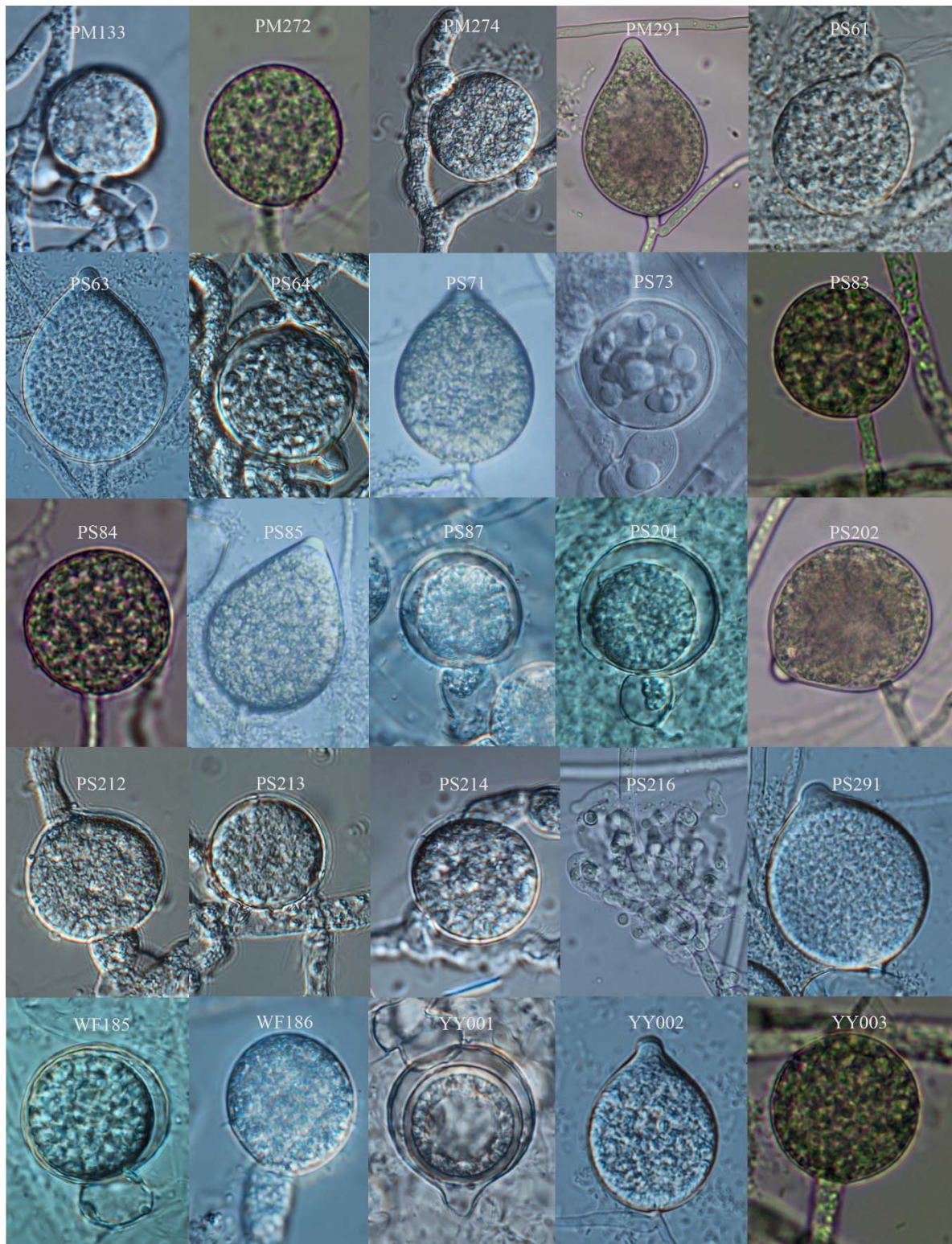
ลำดับ	สถานที่เก็บ	เชื้อรา	
		<i>Phytophthora</i> sp	<i>Pythium</i> sp.
1	สวนส้มไชยปราการ	- YY001, YY002, YY003	- YY007, YY008, YY009, YY010
2	สวนส้มฝาง	- WF185, WF186, WF187	-
3	สวนส้มปางเสี้ยว	- PS61, PS62, PS63, PS64, PS65, PS71, PS73, PS81, PS83, PS84, PS85, PS87, PS191, PS192, PS193, PS201, PS202, PS711, PS721, PS731	- PS21, PS72, PS86, PS91, PS101, PS102, PS111, PS112, PS113, PS212, PS213, PS214, PS215, PS216
4	สวนส้มสิทรวงศ์	- ST301, ST302, ST303, ST311, ST313, ST325, ST326	- ST304, ST305, ST306, ST312, ST314, ST324
5	สวนส้มปู่หมื่น	- PM133, PM271, PM272, PM291	- PM273, PM274, PM275
รวม (isolate)		37	27



รูปที่ 16. ตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน โดยพบว่าลักษณะเส้นใยของเชื้อแตกต่างกันออกไป ก. เชื้อราไอโซเลท PS63 ข. เชื้อราไอโซเลท PS73 ค. เชื้อราไอโซเลท PM29 ง. เชื้อราไอโซเลท WF186 จ. เชื้อราไอโซเลท 003 ฉ. PS85

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ในระดับจิ้นส์ ด้วยลักษณะทางสัณฐาน

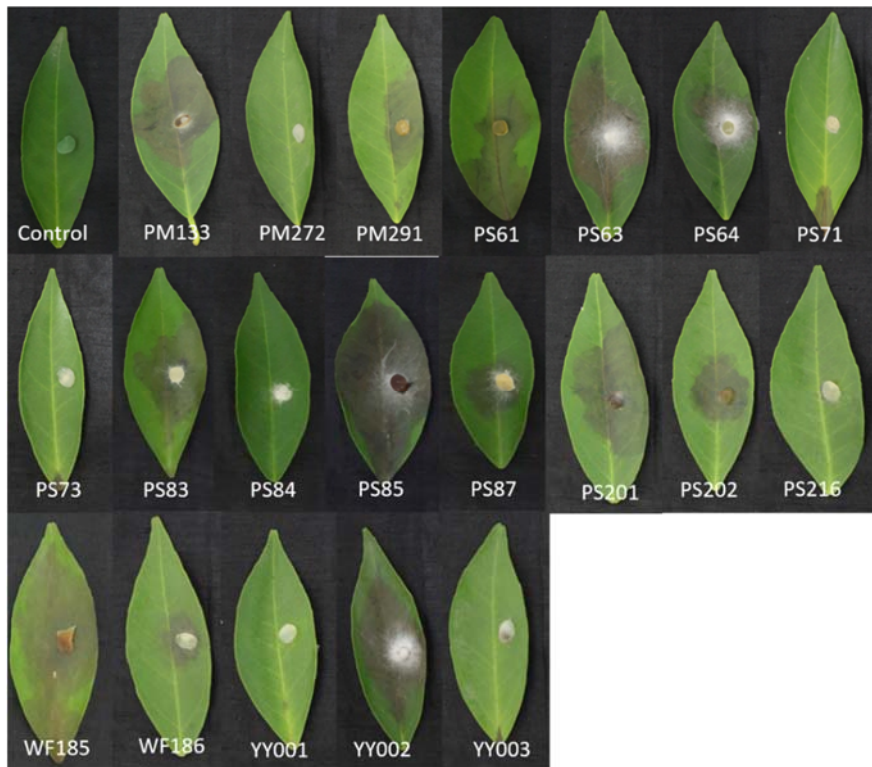
จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่บริสุทธิ์แล้ว จึงทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. ภายใต้กล้อง compound microscope พบว่าเชื้อรา *Phytophthora* sp. มีการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยแบบอาศัยเพศ ลักษณะของเส้นใยไม่มีสี ไม่มีผนังกัน สร้าง sporangium ที่มีขนาดใหญ่กว่าเส้นใย และมีลักษณะกลมรูปไข่ขนาด 25-50x20-40 ไมโครเมตร ภายใน sporangium มี zoospores จำนวนมาก และถูกปลดปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยสายราเพศผู้ (male hypha) เจริญเป็น antheridium และสายราเพศเมีย (female hypha) เจริญเป็น oogonium แล้วให้กำเนิด oospore ที่มีผนังเรียบและหนา สำหรับเชื้อ *Pythium* sp. เส้นใยไม่มีผนังกัน สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สร้าง sporangium รูปร่างค่อนข้างกลม (spherical) และเป็นพู (lobe) และยืดออกเป็นเส้น (filamentous) อยู่ส่วนปลายและอยู่ระหว่างเส้นใย สร้างถุง vesicle พบ zoospore อยู่ภายในจำนวนมาก (รูปที่ 17)



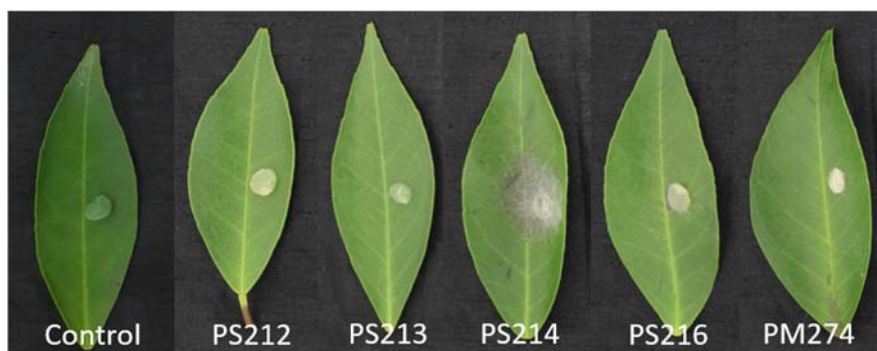
รูปที่ 17. ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. จำนวน 25 ไอโซเลทที่คัดเลือกจาก 64 ไอโซเลทมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคนใบส้ม (detached leaf method)

ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคนใบส้ม ตามวิธีการของ Koch's postulation โดยการคัดเลือกมา 25 ไอโซเลท หลังจากการปลูกเชื้อไปเป็นเวลา 2 วัน พบว่าเชื้อสามารถทำให้เกิดอาการก่อโรคนใบส้ม ทั้งหมด 15 ไอโซเลท โดยเชื้อรา *Phytophthora* (รูปที่ 18) จำนวน 14 ไอโซเลท และ *Pytium* จำนวน 1 ไอโซเลท (รูปที่ 19) ลักษณะอาการเริ่มแรกแสดงอาการใบไหม้ตรงบริเวณที่ปลูกเชื้อ เกิดแผลไหม้สีน้ำตาลเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีอาการของโรค จากนั้นนำผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pytium* จำนวน 25 ไอโซเลท มาแบ่งชี้ระดับความสามารถในการก่อโรค (ตารางที่ 8) โดยบันทึกความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) ตามหลักการของ Shanmugam *et al.* (2009) จากการบันทึกผลการเกิดโรคเป็นเวลา 2 วัน พบว่าเชื้อรา *Phytophthora* ไอโซเลท YY002, WF155 และ PS85 ให้ระดับความรุนแรงในการก่อโรคอยู่ในระดับ 4 (ตารางที่ 5) จึงนำเชื้อรา *Phytophthora* ทั้ง 3 ไอโซเลท ไปทดสอบการศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ต่อไป



รูปที่ 18. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora*



รูปที่ 19. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Pythium* sp.

ตารางที่ 5 ระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ในการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบส้ม

ความรุนแรง	ไอโซเลต										
ระดับที่ 1	PM272	PS73	PS71	PS213	YY003	PM274	PS212	YY001	PS216	PS84	PS87
ระดับที่ 2	ST301	PS202	PS64	PS214	WF186	-	-	-	-	-	-
ระดับที่ 3	PM291	PM133	PS201	PS63	PS61	PS83	-	-	-	-	-
ระดับที่ 4	YY002	WF185	PS85	-	-	-	-	-	-	-	-
ระดับที่ 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับกล้าส้ม (seedling test method)

ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับต้นกล้าส้ม โดยการคัดเลือกมา 25 ไอโซเลต หลังจากการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ (zoospore) แขนงลอยของเชื้อราสาเหตุโรค ในอัตรา 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ตามวิธีการของ Chen et al. (1987) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อไป 1 เดือน ต้นกล้าส้มแสดงอาการผิดปกติ รากเน่าเป็นสีน้ำตาล ใบเหลืองและเหี่ยว (รูปที่ 20 และ 21) จากนั้นนำผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* จำนวน 25 ไอโซเลต มาแบ่งซึ่งระดับความสามารถในการก่อโรค โดยบันทึกความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) ตามหลักการของ Shanmugam et al. (2009) จากการบันทึกผลการเกิดโรคเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเชื้อรา *Pythium* ไอโซเลต PS112 และเชื้อรา *Phytophthora* ไอโซเลต PS72, PS85, PS84 และ WF186 ให้ระดับความรุนแรงในการก่อโรคในต้นกล้าส้มที่ระดับ 5 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลการประเมินระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคกับกล้าส้ม (seedling test method)

ระดับความรุนแรง	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	รหัสเชื้อ	จำนวนเชื้อราสาเหตุโรค (isolate)	แหล่งเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรค
ระดับ 5	พบรากเน่า 76-100%	PS202, PS63, PS85, PS83, WF185	5	- สวนส้มปางเสี้ยว - สวนส้ม อ.ฝาง 1
ระดับ 4	พบรากเน่า 50-75%	YY002, PS87, PS61, PM133	4	- สวนส้ม อ.ฝาง 2 - สวนส้มปางเสี้ยว - สวนส้มปทุมเงิน
ระดับ 3	พบรากเน่า 26-50%		0	-
ระดับ 2	พบรากเน่า 1-25%		0	-
ระดับ 1	ไม่พบอาการรากเน่า	ชุดควบคุม	0	-



รูปที่ 20. ลักษณะอาการของต้นกล้าส้มภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน

ก. ต้นกล้าปกติ

ข. ต้นกล้าที่แสดงอาการเหี่ยว



รูปที่ 21.: ตัวอย่างต้นกล้าส้มทำการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity test) ด้วยวิธี seedling test method

ก. ชุดควบคุม (control) ต้นกล้าส้มแสดงอาการปกติ ไม่พบอาการรากเน่า

ข. ชุดปลูกเชื้อ (Inoculate) ของเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของส้ม หลังจากปลูกเชื้อ 1 เดือน ต้นกล้าส้มแสดงอาการผิดปกติ พบรากเน่า เป็นสีน้ำตาล ใบเหลืองและเหี่ยว

สรุป

การแยกเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่างดิน และตัวอย่างผลรากเน่าของส้มในการแยกเชื้อต้องอาศัยเทคนิคการใช้หยื่อล่อในน้ำใน การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากและโคนเน่าของส้มจะใช้ใบส้มเป็นหยื่อล่อให้ zoospores มาเกาะบนใบส้ม ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการแยกเชื้อในกลุ่มของเชื้อราที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เคลื่อนที่ได้ (zoospores) ในส่วนการจำแนกจีสของเชื้อราที่แยกมาได้จากตัวอย่างโดยใช้ลักษณะสัณฐานทางวิทยาพบ เชื้อรา 2 จีสที่ต้องการนำมาศึกษาคือ เชื้อรา *Phytophthora* sp. และ *Pythium* sp. โดยเชื้อที่แยกได้จะใช้ลักษณะของการสร้างเซลล์แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศในการแยกความแตกต่างของเชื้อ ซึ่งในการแยกเชื้อและจำแนกจีสเชื้อจากตัวอย่างพบเชื้อรา *Phytophthora* sp. มากกว่าเชื้อรา *Pythium* sp. หลังจากการจำแนกจีสเชื้อราที่แยกได้ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบส้ม และต้นกล้าส้มพบว่าส่วนใหญ่เชื้อรา *Phytophthora* sp. จะมีความสามารถในการก่อโรคและมีความรุนแรงในการเกิดโรค โดยเชื้อที่มีความสามารถในการก่อโรคจะถูกนำมาใช้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการต่อไป

บทที่ 6

การควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพ ห้องปฏิบัติการ

Controlling Citrus Root Rot Using Antagonistic Fungi in Laboratory

รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, ฐิติมา วงษ์วาน¹ และสุนิสา ชมชิด¹

Ratchadawan Cheewangkoon¹, Thitima Wongwan¹ and Sunisa Chomchid¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

การศึกษาใช้เทคนิคทางชีวภาพในการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูก ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยสามารถแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเลี้ยงเชื้อได้จำนวน 48 ตัวอย่าง และเมื่อนำมาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าส้มข้างต้น พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท CP3, HT1 และ CP2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด ซึ่งได้เลือกไอโซเลทดังกล่าวเพื่อนำไปพัฒนาใช้ควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือนในรูปเชื้อสดต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* *Phytophthora* *Pythium*

Abstract

The study uses biological techniques to control the shoots of citrus trees in the field of transplantation. Have isolated antagonistic microorganisms and tested the ability to control root rot disease in laboratory conditions by isolating the antagonistic fungus *Chaetomium* spp. In Chiang Mai Province. Strains were isolated from 48 samples. When testing the ability to control the growth of *Phytophthora* and *Pythium* which causes the root rot of the above, *Chaetomium* spp. Isolates CP3, HT1 CP2 is the best inhibitor of fungal fiber growth. Which has chosen such isolates to be developed and used to control root rot in the condition of fresh green house.

Keywords: Antagonistic fungi, *Chaetomium*, *Phytophthora*, *Pythium*

คำนำ

การควบคุมแบบชีววิธีเป็นวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างหนึ่งที่ใช้เชื้อราปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคซึ่งเชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด สามารถพบได้ทั่วไปในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ และสปอร์เชื้อรามีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เนื่องจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงมีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคหลายรูปแบบ การทดลองนี้จะทำการศึกษาความสามารถในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจและเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดิน

สำรวจและเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดินในพื้นที่ สวนส้มปู่หมื่น, สวนส้มปางเสี้ยว, ดอยสุเทพ-ปุย, บริเวณตึกพืชสวนคณะเกษตร มช., บริเวณตึกกาแฟ คณะเกษตร มช., แปลงวิจัยพืชสวน สวนมะม่วงสวนลำไย สวนปาล์ม ณ ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มช., ดินบริเวณโรงสีข้าวชุมชน ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มช., สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ แม่ริม จ.เชียงใหม่ และ ผลิตภัณฑ์ของอาจารย์เกษม สร้อยทอง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ จากนั้นทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค single spore isolation และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ภายใต้กล้อง stereo และ compound microscope

การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราที่มีคุณสมบัติความเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เชื้อรา *Chaetomium* spp. จากการสำรวจมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth, PIRG) คำนวณได้ดังนี้

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

R1

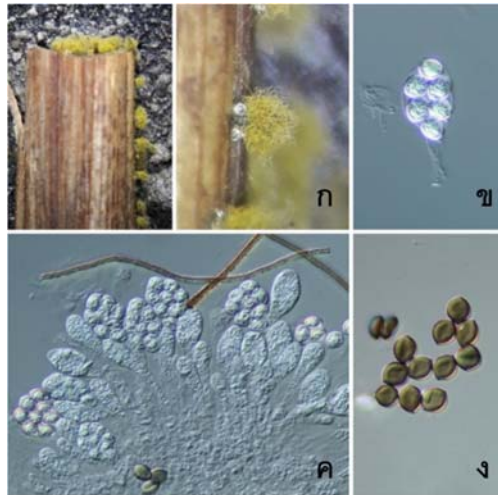
เมื่อ R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อในจานควบคุม (มีหน่วยเป็นเซนติเมตร)

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อในจานทดสอบ (มีหน่วยเป็นเซนติเมตร)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สำรวจและเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดิน

จากการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. โดยทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง พบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งหมดจำนวน 48 ตัวอย่าง (ตารางที่ 7) ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) พบว่าลักษณะโคโลนีมีสีเขียว เมื่อทำการศึกษากายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 630 เท่า พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีการสร้าง perithecium รูปไข่ถึงกลม มีการสร้าง sterile hypha หรือเรียกว่า terminal hairs และ lateral hairs ขดม้วนเป็นวงซึ่งเป็นลักษณะพิเศษโดยเฉพาะ ยื่นออกจากผนังด้านนอกโดยรอบ ascus มีรูปร่างแบบกระบอง ภายในมี 8 ascospore ซึ่งสปอร์นั้นจะมีรูปร่างคล้ายผลมะนาวท้ายแหลม สีน้ำตาลอ่อน และจะถูกปล่อยออกจาก ostiole โดยรวมอยู่กับ gelatinous matrix ไหลออกมาเป็นสาย เชื้อจุลินทรีย์นี้สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่เรียกว่า chaetomin (รูปที่ 22)



รูปที่ 22. ลักษณะเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่แยกได้จากการทดลอง

ก. Fruiting body (Perithecium) ข.-ค. Asci และ ง. Ascospores

ตารางที่ 7 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ

ลำดับ	รหัสเชื้อ	จำนวนไอโซเลตเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp.	สถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อ
1	CH11, CH12, CH13 CH14, CH15 CH21, CH22, CH23, CH24,CH31, CH32, CH33, CH34, CH35, CH36	15	สวนส้มปู่หมื่น
2	BI1, BI61, BI62, BI41, BI42, BI51, BI52	7	สวนส้มปางเสี้ยว
3	T4, T5, T61, T62, T63	5	ดอยสุเทพ-ปุย

4	T71, T72, CF1, CF2	4	คณะเกษตร มช.
5	Coffee1,Coffee2	2	คณะเกษตร มช.
6	CP1, CP2, CP3, CP4, CP5, CP6, CP7, PC1, CR1, MI, CPO1, HT1, HT2	13	สถานีวิจัยแม่เหียะ
7	A1, A2	2	สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์

การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต้นโทรมของ ส้มเขียวหวานในห้องปฏิบัติการ

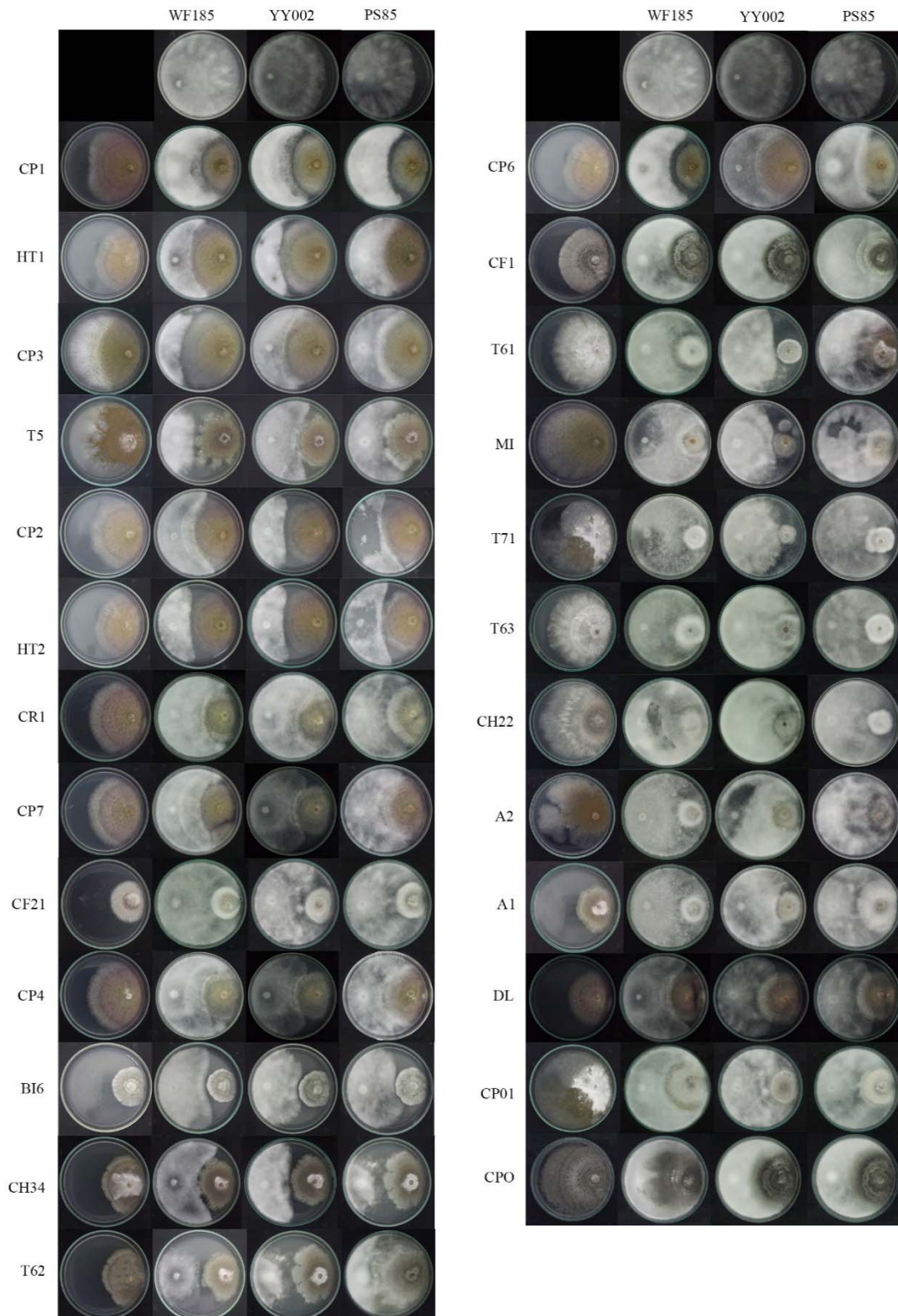
จากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Chaetomium* spp. จำนวน 25 ไอโซเลท ที่คัดเลือกมาจากทั้งหมด 48 ไอโซเลท มาควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002, WF185 และ PS85 ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบส้ม (detached leaf method) โดยวิธีเลี้ยงเชื้อ ร่วมกันบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. 3 ไอโซเลท ได้แก่ CP3, HT1 และ CP2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้เท่ากับ 73.25, 72.50 และ 65.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 8 และ รูปที่ 23) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 1.5 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (control) ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9 เซนติเมตร *Chaetomium* spp. นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำบริเวณที่เชื้อเจริญเข้าหากัน (interface) เมื่อทำสไลด์ส่องดูในกล้องจุลทรรศน์พบว่าเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp. เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคต้นโทรมของส้ม ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ *Chaetomium* spp. แต่ละ isolate ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* sp. ไอโซเลท YY002, WF185 และ PS85

ไอโซเลท <i>Chaetomium</i>	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%PIRG) ^{1/}		
	YY002	WF185	PS85
A1	32.082 ^{JK}	31.66 ^{GH}	48.752 ^{EFG}
A2	36.667 ^{HUJ}	31.248 ^{GH}	35.415 ^I
BI6	37.082 ^{HUJ}	38.335 ^{FG}	39.170 ^{GHI}
CF1	37.082 ^{HUJ}	38.335 ^{FG}	39.170 ^{GHI}
CF21	49.165 ^{DEF}	48.748 ^{DE}	51.250 ^{CDEF}
CH22	53.752 ^{CDE}	29.583 ^H	18.753 ^J
CH34	54.583 ^{CDE}	59.165 ^{AB}	59.165 ^{ABCD}

CP1	46.668 ^{EFG}	56.668 ^{ABCD}	47.918 ^{EFG}
CP2	65.418 ^{AB}	62.503 ^A	60.420 ^{ABC}
CP3	73.250 ^A	63.335 ^A	62.500 ^{AB}
CP4	50.000 ^{DEF}	51.665 ^{BCDE}	50.000 ^{DEF}
CP6	49.165 ^{DEF}	48.748 ^{DE}	51.250 ^{CDEF}
CP7	51.665 ^{CDE}	52.915 ^{BCDE}	51.250 ^{CDEF}
CPO1	39.582 ^{GHI}	52.082 ^{BCDE}	41.668 ^{FGHI}
CR1	50.000 ^{DEF}	50.415 ^{CDE}	52.918 ^{BCDE}
HT1	72.500 ^A	62.500 ^A	64.583 ^A
HT2	65.003 ^{AB}	61.665 ^A	60.833 ^{ABC}
MI	39.374 ^{GHI}	38.957 ^F	38.958 ^{HI}
T5	59.583 ^{BC}	57.500 ^{ABC}	60.000 ^{ABC}
T61	34.998 ^{HIJK}	29.583 ^H	45.832 ^{EFGH}
T62	57.085 ^{BCD}	49.168 ^{DE}	47.918 ^{EFG}
T63	25.833 ^K	45.415 ^{EF}	24.168 ^J
T71	28.335 ^{JK}	28.750 ^H	39.170 ^{GHI}
%CV	14.13	11.97	14.64

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$



รูปที่ 23. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวาน บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

สรุป

ในการแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จะใช้เศษฟางในการนำมาล่อเชื้อ และใช้เทคนิค single spore isolation ในการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ เมื่อนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของสั้ม โดยวิธี dual culture โดยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่รวบรวมได้จากแหล่งต่างๆสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้ ดังนั้นในการนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของสั้มในแปลงเกษตรกรจึงจำเป็นต้องมีการนำไปพัฒนาและวิจัยต่อไป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการมีชีวิตรอดของสปอร์ได้ในการเก็บรักษาและทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

บทที่ 7

การควบคุมโรคต้นโทรมส้มโดยใช้ไบโอเทคนิคในสภาพเรือนปลูกทดลอง Controlling Citrus Decline Disease Using Bio-technique in Greenhouse Condition

ชัยวัฒน์ โตอนันต์¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, เกษม สร้อยทอง², จิตติมา วงษ์วาน¹ และอำพล พรหมเมศรี¹
Chaiwat To-anun¹, Ratchadawan Cheewangkoon¹, Kasem Soyong², Thitima Wongwan¹ and
Amphol Prommate¹

¹ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

²Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL), Bangkok 10520

บทคัดย่อ

การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มโดยใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการทดลองโดยใช้ชีวภัณฑ์ในการรักษาต้นโทรมของส้มเดือนละ 1 ครั้ง ตามอัตราแนะนำ เป็นเวลา 8 เดือน โดยเปรียบเทียบกับวิธีการจัดการโรคต้นโทรมของส้มจากเกษตรกร จากการวัดการเจริญของความยาวยอด จำนวนยอด ความสูงของต้น ปริมาณค่าคลอโรฟิลล์ในใบ ขนาดใบ ความสมบูรณ์ของราก และค่าความเป็นกรด-ด่างของดินในกระถาง พบว่าค่าตัวเลขข้อมูลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างวิธีการชีววิธีและกรรมวิธีการจัดการโดยใช้สารเคมี โดยการจัดการในการปลูกส้มในสภาพโรงเรือนการเจริญเติบโตของต้นกล้าส้มมีแนวโน้มการเจริญดีเนื่องจากการควบคุมปัจจัยในการเจริญเติบโตของส้มอย่างเหมาะสม

คำสำคัญ: โรคต้นโทรมของส้ม โรคกรีนนิ่ง โรครากเน่าโคนเน่าของส้ม

Abstract

Controlling citrus decline disease (root rot, stem rot and greening) in greenhouse condition by planting tangerine seedlings that is propagated by means of a one-year-old cutting stock divided into 12 treatments to compare the control of greening disease, and root rot by using bio-techniques. The use of organic fertilizers is to improve soil quality together with the use of *Chaetomium* spp. Fungicide and the management of the farmers' model, emphasizing the use of chemical fertilizers both soil and foliar by measuring the growth of citrus trees in pots including the number of new shoots, length, peak, height of the citrus tree. The amount of chlorophyll in the citrus leaf, the size of the citrus leaf and the amount of citrus root for 8 months was found that the management using bio-technique

and farmers' management causing the citrus trees grown in both types of diseases to grow that are not different.

Keywords: Citrus decline disease, Greening disease, Citrus root rot disease

คำนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ (*Chaetomium* spp.) ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า และโรครินนิ่งร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงโครงสร้างและคุณภาพดินปลูกเปรียบเทียบกับจัดการตามแบบของเกษตรกรคือเน้นการใช้ปุ๋ยเคมีทั้งทางดิน และทางใบ โดยทุกกรรมวิธีใช้ต้นกล้าส้มสายน้ำผึ้งอายุ 1 ปีที่ได้จากการตอนกิ่ง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 12 กรรมวิธี ซึ่งมีการควบคุมปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมือนกันทุกประการ ใช้ต้นกล้าส้มสายพันธุ์เดียวกัน อายุกล้าส้มเท่ากัน วิธีการปลูกเชื้อ และปริมาณเชื้อเหมือนกันทุกกรรมวิธี จากการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรินนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลองสามารถควบคุมปัจจัยทางสภาพแวดล้อมได้ จึงส่งผลผลการทดลองที่ได้มีความแปรปรวนน้อยและมีความละเอียดแม่นยำ และเห็นถึงความแตกต่างของแต่ละกรรมวิธีได้อย่างชัดเจนมากกว่าการทดลองในแปลงปลูกที่ไม่สามารถควบคุมปัจจัยทางสภาพแวดล้อมได้

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการปลูกต้นกล้าส้มสายน้ำผึ้งที่ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่ง อายุ 1 ปี ในวัสดุที่ประกอบด้วย ดินปลูก และแกลบดิบฆ่าเชื้อในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว ภายในโรงเรือนปลูกต้นไม้สวนปทุมนี้ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ Completely Randomized Block Design (RCBD) แบ่งการทดลองเป็น 12 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม รดด้วยน้ำเปล่า
- กรรมวิธีที่ 2 รดด้วยน้ำเปล่า + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่า
- กรรมวิธีที่ 3 รดด้วยน้ำเปล่า + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง
- กรรมวิธีที่ 4 รดด้วยน้ำเปล่า + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่า + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง
- กรรมวิธีที่ 5 ดูแลแบบชีววิธี
- กรรมวิธีที่ 6 ดูแลแบบชีววิธี + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า
- กรรมวิธีที่ 7 ดูแลแบบชีววิธี + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง
- กรรมวิธีที่ 8 ดูแลแบบชีววิธี + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า + เชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง
- กรรมวิธีที่ 9 ดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกร
- กรรมวิธีที่ 10 ดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกร + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า
- กรรมวิธีที่ 11 ดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกร + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง
- กรรมวิธีที่ 12 ดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกร + ปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่า + เชื้อสาเหตุโรครินนิ่ง

กรรมวิธีละ 4 ซ้ำโดยกรรมวิธีที่ ต้องปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า (*Phytophthora* sp.) และเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) จะทำการปลูกเชื้อ และทำการบันทึกผลการเจริญเติบโต และการพัฒนาของโรคในต้นกล้าส้ม หลังจากย้ายปลูก 3 เดือน เป็นประจำทุกเดือน เป็นเวลา 8 เดือน โดยมีผลการเจริญเติบโตดังนี้

1. ความยาวของยอดส้ม วัดจากโคนถึงปลายใบที่อยู่ยอดสุด จำนวน 10 ยอด ซึ่งเลือกจาก 3 กิ่งที่ใช้ในการนับจำนวนยอด นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ

2. การนับจำนวนยอดส้ม ทำการเลือกกิ่งส้ม ต้นละ 3 กิ่ง รอบต้นส้ม นับจำนวนยอดที่แตกบนกิ่งดังกล่าว ตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ เป็นต้นไป นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ

3.การวัดความสูงของต้นส้ม

วัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่อยู่ยอดสุด นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ

4.การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบพืชใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงค่าดัชนีความเขียวความเข้มของสีใบ ใบพืชที่มีสีเขียวเข้มจะมีปริมาณของคลอโรฟิลล์ที่ค่อนข้างสูง ในการตรวจวัดหาปริมาณของคลอโรฟิลล์นั้นทำได้หลายเทคนิค เช่น ใช้หลักการของ spectrophotometry หรือใช้หลักการ titration เป็นต้น สำหรับการทดลองนี้ ได้ใช้เครื่องมือวัดที่ไม่ทำลายตัวอย่างใบพืช นั่นคือทำการวัดด้วยเครื่อง chlorophyll meter หน่วยที่วัดได้เรียกว่า SPAD โดยทำการวัดที่ใบ 5 ใบต่อต้น และจะได้ค่าเฉลี่ยออกมาเป็นตัวเลขที่วัดได้ จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาหาความสัมพันธ์ของหน่วยที่วัดเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบระดับสีและปริมาณของคลอโรฟิลล์ ถ้าพบว่าใบพืชนั้นมีค่าคลอโรฟิลล์ต่ำ นั้นหมายความว่าอัตราการเกิดใบด่างหรือใบซีดเหลืองจะสูงซึ่งสอดคล้องกับการได้รับธาตุอาหารไนโตรเจน ถ้าหากพืชได้รับธาตุอาหารในกลุ่มของปุ๋ยยูเรียมาก ใบพืชจะมีความเขียวเข้มและค่าคลอโรฟิลล์จะสูง บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของต้นพืช

5.ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในดินปลูกส้มในแต่ละกรรมวิธี ด้วยเครื่อง pH meter แบบพกพา

โดยวัดดินบริเวณโคนต้น ห่างจากโคนต้นประมาณ 1 ฟุต ทั้ง 2 ด้านของต้น นำมาหาค่าเฉลี่ย ของแต่ละต้น และนำค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน ในแต่ละต้นมาคำนวณทางสถิติ

6.การวัดขนาดของใบ

ทำการวัดขนาดใบด้านกว้างและด้านยาว นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

7.ความสมบูรณ์ของรากส้ม

ถอนต้นส้มเพื่อดูความสมบูรณ์ของราก โดยดูการแตกราก วัดขนาด จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยทางสถิติ

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ความยาวของยอดส้ม

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของส้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำผลความยาวยอดส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ 9-12 วิธีการของเกษตรกรมีแนวโน้มได้ผลดีกว่าชีววิธีและชุดควบคุม (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9. ความยาวยอดส้มในแต่ละกรรมวิธีของการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ความยาวยอด (เซนติเมตร) ^{1/}							
	ก.พ. 60	มี. ค. 60	เม. ย. 60	พ.ค. 60	มิ.ย. 60	ก.ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค. 60
1	11.12 ^a	13.8 ^{ab}	14.52 ^a	18.22 ^{abc}	16.55 ^{ab}	20.05 ^{ab}	18.75 ^{abc}	25.25 ^{ab}
2	10.70 ^{ab}	11.78 ^{bcde}	9.97 ^c	17.32 ^{abcd}	16.07 ^{ab}	17.87 ^{ab}	17.07 ^{abc}	21.56 ^{ab}
3	8.75 ^{ab}	13.22 ^{abc}	14.37 ^a	18.50 ^{ab}	16.07 ^b	17.00 ^{ab}	15.15 ^c	20.94 ^{ab}
4	9.22 ^{ab}	10.68 ^{cde}	14.85 ^a	16.15 ^{abcd}	16.07 ^{ab}	19.87 ^{ab}	17.50 ^{abc}	22.22 ^{ab}
5	10.52 ^{ab}	13.15 ^{abcd}	14.55 ^a	19.90 ^a	16.07 ^a	22.12 ^a	21.62 ^a	28.02 ^a
6	10.50 ^{ab}	13.28 ^{abc}	10.25 ^c	18.77 ^{ab}	14.52 ^b	18.20 ^a	16.25 ^{bc}	20.39 ^{ab}
7	10.15 ^{ab}	14.10 ^{ab}	14.65 ^a	18.57 ^{ab}	14.55 ^b	16.25 ^b	16.20 ^{bc}	19.08 ^b
8	10.25 ^{ab}	10.58 ^{de}	14.42 ^a	14.52 ^{cd}	16.60 ^{ab}	16.85 ^{ab}	18.75 ^{abc}	21.77 ^{ab}
9	11.25 ^a	14.72 ^a	15.05 ^a	19.05 ^a	16.47 ^{ab}	19.17 ^{ab}	16.92 ^{abc}	24.82 ^{ab}
10	9.15 ^{ab}	12.82 ^{abcde}	10.70 ^{bc}	17.80 ^{abcd}	18.55 ^{ab}	21.07 ^{ab}	20.90 ^{ab}	23.36 ^{ab}
11	8.5 ^{ab}	12.30 ^{abcde}	13.37 ^{ab}	15.22 ^{bcd}	18.62 ^{ab}	21.12 ^a	20.07 ^{abc}	26.92 ^{ab}
12	8.15 ^b	10.50 ^e	14.40 ^a	14.30 ^{bd}	19.82 ^a	21.87 ^a	20.37 ^{ab}	27.93 ^a
%CV	20.08	14.46	14.31	15.20	19.48	19.54	19.07	25.69

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

2. การนับจำนวนยอดสั้ม

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนึ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของสั้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำผลจำนวนยอดสั้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ 9-12 วิธีการของเกษตรกรมีแนวโน้มได้ผลดีกว่าชีววิธีและชุดควบคุม (ตารางที่ 10)

ตาราง 10 จำนวนยอดสั้มในแต่ละกรรมวิธีของการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของสั้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	จำนวนยอด ^{1/}								
	ก.พ. 60	มี.ค. 60	เม. ย. 60	พ.ค. 60	มิ.ย. 60	ก.ค. 60	ส.ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค.60
1	22.25 ^a	33.81 ^{ab}	27.56 ^{abc}	34.81 ^{bcd}	55.88 ^{abc}	61.63 ^{abcd}	73.19 ^{abcd}	74.31 ^{bcd}	5.75 ^{ab}
2	24.50 ^a	40.00 ^{ab}	24.13 ^{abc}	33.44 ^{bcd}	45.50 ^c	49.69 ^{cd}	60.25 ^d	61.06 ^d	1.98 ^{bcd}
3	14.43 ^a	29.00 ^{ab}	19.56 ^c	29.56 ^d	46.56 ^{bc}	51.25 ^{cd}	65.44 ^{cd}	67.88 ^{cd}	1.56 ^{cd}
4	21.81 ^a	34.00 ^{ab}	26.18 ^{abc}	35.81 ^{bcd}	54.06 ^{abc}	58.25 ^{bcd}	74.75 ^{abcd}	75.00 ^{abcd}	1.31 ^{cd}
5	17.31 ^a	30.81 ^{ab}	21.75 ^{bc}	26.38 ^d	45.25 ^c	49.13 ^d	62.85 ^{cd}	64.75 ^{cd}	0.75 ^d
6	20.06 ^a	34.19 ^{ab}	24.56 ^{abc}	31.44 ^{cd}	47.13 ^{bc}	51.56 ^{cd}	65.31 ^{cd}	66.06 ^{cp}	0.56 ^d
7	21.06 ^a	31.86 ^{ab}	25.69 ^{abc}	31.50 ^{cd}	55.06 ^{abc}	60.19 ^{bcd}	72.00 ^{bcd}	72.56 ^{bcd}	2.00 ^{bcd}
8	19.12 ^a	37.06 ^{ab}	24.75 ^{abc}	36.00 ^{bcd}	59.00 ^{abc}	62.63 ^{abcd}	74.25 ^{abcd}	75.50 ^{abcd}	1.19 ^{cd}
9	12.62 ^a	26.75 ^b	23.88 ^{abc}	36.44 ^{bcd}	54.06 ^{abc}	61.81 ^{abcd}	77.44 ^{abc}	79.12 ^{abc}	4.00 ^{cd}
10	19.43 ^a	37.31 ^{ab}	30.50 ^{ab}	43.94 ^{ab}	66.75 ^a	72.63 ^{ab}	87.75 ^{ab}	88.06 ^{ab}	6.00 ^a
11	12.68 ^a	41.94 ^a	32.13 ^a	48.19 ^a	69.63 ^a	77.00 ^a	88.94 ^a	91.25 ^a	7.00 ^a
12	17.37 ^a	35.14 ^{ab}	28.44 ^a	42.31 ^{abc}	62.75 ^{ab}	65.94 ^{abc}	83.19 ^{ab}	84.88 ^{ab}	4.93 ^{abc}
%CV	51.92	28.34	26.42	21.12	20.8	19.33	15.72	15.41	88.84

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.0$

3. การวัดความสูงของต้นสั้ม

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนึ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของสั้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำผลความสูงต้นสั้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ 9-12 วิธีการของเกษตรกรมีแนวโน้มได้ผลดีกว่าชีววิธีและชุดควบคุม (ตารางที่ 11 และรูปที่ 24)

ตารางที่ 11 ความสูงต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากการทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ความสูงต้น ^{1/}						
	มี.ค. 60	เม.ย. 60	พ. ค.60	มิ.ย. 60	ก. ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค. 60
1	70.25 ^a	71.97 ^a	81.44 ^a	83.37 ^{cd}	92.19 ^{bc}	98.94 ^c	114.08 ^{bcd}
2	68.03 ^a	70.37 ^a	79.43 ^a	84.87 ^{cd}	91.59 ^c	99.72 ^c	108.29 ^{cdef}
3	64.62 ^a	67.59 ^a	78.18 ^a	84.97 ^{cd}	92.75 ^{bc}	100.44 ^c	112.20 ^{cde}
4	69.37 ^a	70.72 ^a	79.56 ^a	83.19 ^{cd}	91.56 ^c	96.13 ^c	97.31 ^f
5	67.88 ^a	69.90 ^a	79.08 ^a	84.59 ^{cd}	94.88 ^{abc}	102.00 ^{abc}	111.59 ^{cde}
6	67.75 ^a	68.25 ^a	79.93 ^a	86.91 ^{bc}	98.06 ^{abc}	106.25 ^{abc}	107.91 ^{def}
7	69.93 ^a	71.56 ^a	85.12 ^a	74.33 ^d	89.00 ^c	94.88 ^c	107.66 ^{def}
8	67.18 ^a	69.00 ^a	76.93 ^a	86.40 ^{bc}	89.44 ^c	97.13 ^c	99.75 ^{ef}
9	69.87 ^a	70.81 ^a	81.37 ^a	91.34 ^{abc}	97.56 ^{abc}	107.31 ^{abc}	118.41 ^{abcd}
10	69.90 ^a	71.78 ^a	84.87 ^a	97.91 ^{ab}	104.81 ^{ab}	113.06 ^{ab}	121.56 ^{abc}
11	67.18 ^a	68.81 ^a	82.00 ^a	98.84 ^a	106.69 ^a	114.97 ^a	130.47 ^a
12	68.93 ^a	69.75 ^a	82.37 ^a	98.15 ^{ab}	107.50 ^a	113.31 ^{ab}	125.93 ^{ab}
%CV	6.46	6.39	7.64	9.35	9.39	8.79	8.24

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

4. การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของส้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำผลค่าคลอโรฟิลล์ของต้นส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ 9-12 วิธีการของเกษตรกรมีแนวโน้มได้ผลดีกว่าชีววิธีและชุดควบคุม (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ค่าคลอโรฟิลล์ของใบส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ค่าคลอโรฟิลล์ (SPAD Unit) ^{1/}					
	มี.ค. 60	เม.ย. 60	พ. ค. 60	มิ.ย. 60	ก. ค. 60	ก.ย. 60
1	44.3 ^a	58.7 ^{ab}	65.9 ^{ab}	64.7 ^{abc}	66 ^{abcd}	57.1 ^{bc}
2	44.4 ^a	56.9 ^{abc}	64.0 ^{abc}	64.7 ^{abc}	60.3 ^e	50.4 ^c
3	38.9 ^b	51.8 ^d	61.6 ^c	64.4 ^{abc}	64.8 ^{abcde}	61.4 ^{ab}
4	43.3 ^{ab}	52.7 ^d	61.3 ^c	62.5 ^c	61.3 ^{de}	58.6 ^{bc}
5	42.1 ^{ab}	57.3 ^{abc}	64.5 ^{abc}	65.4 ^{abc}	64.6 ^{abcde}	60.2 ^{abc}
6	41.8 ^{ab}	55.2 ^{bcd}	63.3 ^{bc}	62.9 ^{bc}	62.9 ^{bcde}	62.1 ^{ab}
7	38.5 ^b	53.9 ^{cd}	63.9 ^{abc}	62.8 ^{bc}	64.0 ^{abcde}	57.8 ^{bc}
8	41.9 ^{ab}	53.7 ^{cd}	63.2 ^{bc}	61.9 ^c	61.5 ^{cde}	60.8 ^{abc}
9	43.1 ^{ab}	57.4 ^{abc}	64.7 ^{abc}	63.9 ^{abc}	66.2 ^{abc}	63.4 ^{ab}
10	43.9 ^a	58.2 ^{ab}	64.7 ^{abc}	66.7 ^{ab}	67.9 ^a	66.5 ^{ab}
11	42.8 ^{ab}	58.8 ^{ab}	65.7 ^{ab}	67.7 ^a	67.5 ^{ab}	69.9 ^a
12	43.3 ^{ab}	59.6 ^a	66.9 ^a	66.9 ^{ab}	68.2 ^a	66.6 ^{ab}
%CV	7.52	5.1	3.79	4.4	5.12	11.84

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

5. ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในดินปลูกส้มในแต่ละกรรมวิธี ด้วยเครื่อง pH meter แบบพกพา

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของส้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำค่าความเป็นกรด-ด่างของต้นส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าทุกกรรมวิธีมีสภาพดินเป็นกรดอ่อน (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ค่า pH ^{1/}						
	มี.ค. 60	เม.ย. 60	พ.ค. 60	มิ.ย. 60	ก. ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค. 60
1	5.18 ^{ab}	5.25 ^{bcde}	5.83 ^a	5.53 ^a	5.36 ^a	4.91 ^a	5.0 ^{abc}
2	5.07 ^b	5.64 ^a	5.62 ^{abc}	5.47 ^{ab}	5.33 ^{ab}	4.90 ^a	4.9 ^{cd}
3	5.07 ^b	5.04 ^e	5.78 ^{ab}	5.49 ^{ab}	5.03 ^{cd}	4.91 ^a	4.9 ^{cd}
4	5.08 ^b	5.39 ^{abc}	5.75 ^{abc}	5.45 ^{ab}	5.10 ^{cd}	4.95 ^a	4.8 ^d
5	5.13 ^{ab}	5.09 ^{de}	5.68 ^{abc}	5.49 ^{ab}	5.01 ^{cd}	4.95 ^a	5.1 ^{ab}
6	5.32 ^a	5.31 ^{bcd}	5.82 ^a	5.39 ^{ab}	5.14 ^{bcd}	5.12 ^a	4.9 ^{bc}
7	5.12 ^{ab}	5.21 ^{cde}	5.62 ^{abc}	5.38 ^{ab}	4.99 ^{cd}	4.92 ^a	4.9 ^a
8	5.07 ^b	5.48 ^{ab}	5.46 ^c	5.36 ^b	5.17 ^{abc}	5.05 ^a	5.0 ^{abc}
9	5.05 ^b	5.18 ^{cde}	5.51 ^{bc}	5.38 ^{ab}	4.95 ^d	4.00 ^b	4.9 ^{cd}
10	5.15 ^{ab}	5.31 ^{bcd}	5.61 ^{abc}	5.44 ^{ab}	5.09 ^{cd}	4.11 ^b	4.9 ^{cd}
11	5.03 ^b	5.24 ^{bcde}	5.73 ^{abc}	5.54 ^a	5.09 ^{cd}	4.06 ^b	4.9 ^{bcd}
12	5.21 ^{ab}	5.56 ^a	5.70 ^{abc}	5.52 ^{ab}	5.09 ^{cd}	4.21 ^b	4.8 ^{cd}
%CV	2.68	3.24	3.75	2.13	2.74	4.92	2.12

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$

6.การวัดขนาดของใบ

จากผลการการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครินนิ่ง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรมของส้มในโรงเรือน โดยทำการดูแลแบบชีววิธีและดูแลด้วยวิธีการของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันโดยปกติซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปรากฏว่าเมื่อนำผลขนาดใบต้นส้มที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ 9-12 วิธีการของเกษตรกรมีขนาดใบที่ใหญ่กว่าชีววิธีและชุดควบคุม (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ขนาดใบส้มจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	ขนาดใบ (cm) ^{1/}					
	กันยายน 2560			ตุลาคม 2560		
	กว้าง	ยาว	ค่า กxย	กว้าง	ยาว	ค่า กxย
1	3.2 ^{ab}	6.8 ^a	21.67	2.80 ^{cd}	6.43 ^{bcde}	17.99 ^{cd}
2	3.0 ^{ab}	6.6 ^{ab}	19.8	2.82 ^{cd}	6.08 ^e	17.15 ^d
3	3.3 ^a	6.7 ^a	22.11	2.82 ^{cd}	6.42 ^{bcde}	18.08 ^{bcd}
4	2.8 ^{ab}	6.1 ^{ab}	17.08	2.77 ^d	6.19 ^{de}	17.16 ^d
5	3.0 ^{ab}	6.5 ^{ab}	19.50	3.10 ^a	6.74 ^{abc}	20.94 ^{ab}
6	2.9 ^{ab}	6.4 ^{ab}	18.56	3.06 ^{ab}	6.70 ^{abcd}	20.53 ^{abc}
7	2.8 ^{ab}	6.3 ^{ab}	17.64	2.98 ^{abcd}	6.49 ^{bcde}	19.36 ^{abcd}
8	2.9 ^{ab}	5.9 ^b	17.11	2.87 ^{bcd}	6.26 ^{cde}	17.96 ^{cd}
9	2.7 ^b	6.1 ^{ab}	16.47	2.96 ^{abcd}	6.8 ^{ab}	20.16 ^{abc}
10	2.9 ^{ab}	6.3 ^{a^b}	18.27	3.00 ^{abc}	6.7 ^{abcd}	20.20 ^{abc}
11	2.9 ^{ab}	6.5 ^{ab}	18.85	3.11 ^a	7.11 ^a	22.17 ^a
12	2.7 ^b	6.2 ^{ab}	16.74	2.96 ^{abcd}	6.78 ^{abc}	20.14 ^{abc}
%CV	12.95	8.44		5.14	5.64	

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$



รูปที่ 24. ลักษณะของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือนเดือนกรกฎาคม

7.ความสมบูรณ์ของรากส้ม

ผลการทดลองการปลูกต้นกล้าส้มสายน้ำผึ้งที่ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่ง อายุ 1 ปี ในวัสดุที่ประกอบด้วย ดินปลูก และแกลบดิบฆ่าเชื้อในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ภายในโรงเรือน ปลูกต้นไม้สวนปทุมนี้ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ Completely Randomized Block Design (RCBD) แบ่งการทดลองเป็น 12 กรรมวิธี พบว่า ความสมบูรณ์ของรากส้มใน กรรมวิธีที่ 2 และ กรรมวิธีที่ 3 ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 15) เมื่อพิจารณาจากขนาดใบ สีของใบ ขนาดทรงพุ่มต้น และความสมบูรณ์ของรากที่ละส่วน รวมทั้งอาการเน่าของราก (รูปที่ 25 และ 26) กรรมวิธีที่ 2 ใบมีสีเขียว รากแตกแขนงดี อาการเน่าของรากมีปริมาณน้อย ทรงพุ่มหนาแน่น และไม่พบต้นที่ตายในแต่ละซ้ำ ซึ่งกรรมวิธีที่ 3 พบว่ามีบางซ้ำที่ต้นตาย ทรงพุ่มไม่หนาแน่น และใบมีสีเหลือง ที่เกิดจากอาการกรีนนิ่งมากกว่า อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองของกรรมวิธีที่ 2 และ 3 ให้ผลการทดลองและมีความสมบูรณ์ของต้นส้มดีกว่ากรรมวิธีที่ 1

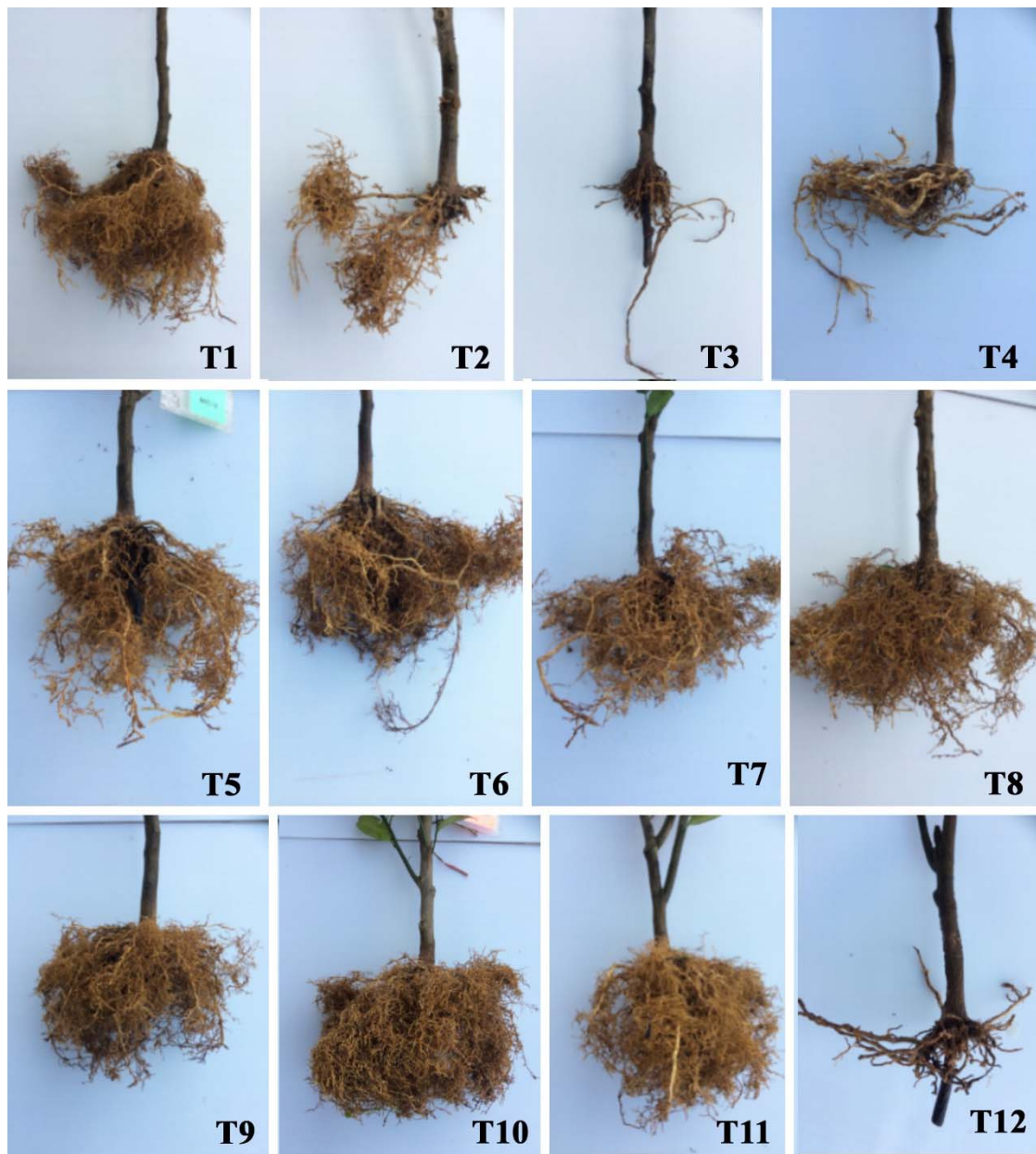
ตารางที่ 15 ความสมบูรณ์ของรากต้นส้มสายน้ำผึ้งในแต่ละกรรมวิธีที่ทดสอบในโรงเรือน

ชุดควบคุม ^{1/}		การดูแลแบบชีววิธี ^{1/}		การดูแลแบบเกษตรกร ^{1/}	
กรรมวิธี	ความสมบูรณ์ ของราก	Treatment	ความสมบูรณ์ ของราก	กรรมวิธี	ความสมบูรณ์ ของราก
1	2.67 ^{bc}	5	3.33 ^{ab}	9	4.33 ^a
2	1.67 ^{cd}	6	3.67 ^{ab}	10	4.33 ^a
3	1.33 ^d	7	4.33 ^a	11	4.00 ^a
4	2.00 ^{cd}	8	4.00 ^{cd}	12	2.67 ^{bc}
%cv	22.14				

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$



รูปที่ 25. ลักษณะทางกายภาพ (ขนาดทรงพุ่ม ขนาดใบ สีใบ และความสมบูรณ์ของราก) ของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน ระยะเวลา 10 เดือน (ปิดการทดลองในโรงเรือน)



รูปที่ 26. ลักษณะทางของราก ของต้นส้มในแต่ละกรรมวิธีจากทดสอบการรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพโรงเรือน ระยะเวลา 10 เดือน (ปิดการทดลองในโรงเรือน)

สรุป

จากผลการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรีนนิ่ง) ในเรือนปลูกทดลองปลูก โดยแบ่งการทดลองเป็น 12 กรรมวิธี เพื่อเปรียบเทียบการควบคุมโรคกรีนนิ่งและรากเน่าโดยใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* spp. และการจัดการตามแบบของเกษตรกรคือเน้นการใช้ปุ๋ยเคมีทั้งทางดินและทางใบ ทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นส้มในกระถาง ได้แก่จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ความสูงของต้นส้ม ปริมาณคลอโรฟิลในใบ ส้ม ขนาดใบส้ม และปริมาณรากส้ม เป็นเวลา 8 เดือน พบว่าการจัดการโดยใช้ไบโอเทคนิค และการจัดการแบบเกษตรกร ทำให้ต้นส้มที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน

บทที่ 8

การควบคุมโรคต้นโทรมส้มในสภาพแปลงปลูก

Controlling Citrus Decline Disease in Planting Plot

ชัยวัฒน์ โตอนันต์¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, เกษม สร้อยทอง², โรเบิร์ต เจมส์ แมกกอฟเวิน¹, ฐิติมา วงษ์วาน¹
และปริญญ์ น้อยเรือง

Chaiwat To-anun¹, Ratchadawan Cheewangkoon¹, Kasem Soyong², Robert J. McGovern¹,
Thitima Wongwan¹ and Parinn Noireung¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai
50200

²Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute
of Technology Ladkrabang (KMUTL), Bangkok 10520

บทคัดย่อ

การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมในแปลงปลูกส้มของเกษตรกร ได้ทำการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานโดยใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบการจัดการตามแบบของเกษตรกร ในสวนส้มปทุมวัน สวนส้มเกียรติ สวนปางเสี้ยว และสวนสิทรวงศ์ โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรค วัดการเจริญเติบโตของต้นส้ม ได้แก่จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบส้ม ขนาดใบส้ม จำนวนการติดผล ขนาดของผล ความหวาน และปริมาณผลผลิต เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าการแตกยอด ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบ และการติดผลไม่แตกต่างกันทั้งสองวิธีการจัดการในแต่ละสวน แต่ผลการวัดขนาดของพบว่าสวนปางเสี้ยว สวนสิทรวงศ์ และสวนสมเกียรติมีขนาดผลส้มความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี แต่พบว่าเนื้อส้มในกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีเนื้อที่ฟาม และจำนวนเมล็ดลึบมากกว่า แต่ในสวนปทุมวันพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีขนาดผลที่โตกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบความหวาน พบว่ากรรมวิธีไบโอเทคนิคมีความหวานมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีในทุกสวน ยกเว้นสวนปางเสี้ยว เนื่องจากไม่มีการเก็บผลผลิต ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในโรงเรือน ดังนั้นไบโอเทคนิคสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมี เพื่อรักษาคุณภาพของดินในระยะยาว

คำสำคัญ: โรคต้นโทรมของส้ม กรีนนิ่ง โรครากเน่าโคนเน่าของส้ม

Abstract

Test for controlling decline tree disease in farmers' citrus planting. Tested the control of tangerine disease of tangerine by using bio-techniques. The use of organic fertilizers to improve soil quality together with the use of *Chaetomium* fungi in the citrus Phu meum Som Kiat Suan Pang Seaw and Suan Sithawong. By assessing the severity of the disease, measuring the growth of citrus trees including the number of new shoots, length, amount of chlorophyll in the citrus leaf, citrus leaf size, number of fruiting, size of sweetness and yield for 11 months. Blade and the effects were not different in both methods of management in each garden. But, the results of the measurement of the size showed that Pang Siang Park, Sittiwong Garden and Suan Som kait had different sizes of citrus fruits in each process. I was also found that the citrus flesh in the process using chemical fertilizer has a decaying area, and a larger number of seeds in Suan Phu Muen, the process of using chemical fertilizers has a larger effect. But when comparing the sweetness, it was found that the bio technique is sweeter than the chemical fertilizer method of citrus in each garden, except for the crescent garden. Because there is no production which corresponds to the tests in the house.

Therefore, biotechnology can be another option for farmers to reduce the use of chemical fertilizers to maintain long-term soil quality.

Keywords: Citrus decline disease, Greening disease, Citrus root rot disease

คำนำ

การทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานโดยใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบการจัดการตามแบบของเกษตรกร ในสวนส้มปุ๋ยหมัก สวนส้มเกี๋ยรติ สวนปางเสี้ยว และสวนสิทรวงศ์ โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรคต้นโทรมหลังการทดลอง ตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารและปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน วัดค่าความเป็นกรดต่างของดิน วัดการเจริญเติบโตของต้นส้ม ได้แก่ จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบส้ม จำนวนการติดผล ขนาดของผล ความหวาน และปริมาณผลผลิต จากการเก็บข้อมูลพบว่าปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ส่งผลกระทบต่อความแปรปรวนของข้อมูลเป็นอย่างยิ่ง เช่น สภาพอากาศที่ร้อนจัด แล้งจัด ฝนตกหนัก และโครงสร้างของดินโดยพื้นฐานที่ไม่สามารถปรับปรุงและแก้ไขได้ จึงทำให้คณะผู้วิจัยได้ทราบและตระหนักถึงความสำคัญของการจัดการศัตรูพืชที่เน้นวิธีการป้องกันมากกว่าการรักษา เนื่องจากต้นพืชเมื่อแสดงอาการของโรคในระดับที่รุนแรงแล้วจึงไม่สามารถรักษาหรือฟื้นฟูให้กลับมาสมบูรณ์ได้ค่อนข้างยาก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมหลังการรักษา

ทำการทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design; RCBD) แบ่งเป็น 3 กรรมวิธีคือ

- กรรมวิธีที่ 1 ขุดควบคุม จำนวน 40 ต้น/สวน (ปางเสี้ยว)
(สวนส้มปุ๋ยหมักมีจำนวน 60 ต้น, สวนส้มเกี๋ยรติไม่ทดสอบกรรมวิธีที่ 1)
- กรรมวิธีที่ 2 การใช้ Bio-technique ในการจัดการโรคต้นโทรม จำนวน 40 ต้น/สวน
(สวนปางเสี้ยว) (สวนส้มปุ๋ยหมักมีจำนวน 60 ต้น, สวนส้มเกี๋ยรติ 32)
- กรรมวิธีที่ 3 การใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรม จำนวน 40 ต้น/สวน (สวนปางเสี้ยว) (สวนส้มปุ๋ยหมักมีจำนวน 60 ต้น, สวนส้มเกี๋ยรติ 32)

การประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม

ทำการสำรวจแปลงสวนส้มที่ร่วมโครงการ และทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคและระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรม โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเป็นโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการของโรค}}{\text{จำนวนต้นส้มทั้งหมดในแปลงทดลองนั้น}} \times 100$$

จากนั้นทำการประเมินความรุนแรงของโรคจะประเมินในแต่ละต้นที่แสดงอาการโรคที่ระดับความรุนแรง 5 ระดับ ดังนี้

ระดับการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์อาการต้นโทรม (%)
0	0 = ไม่แสดงอาการต้นโทรม
1	1-25% = แสดงอาการต้นโทรม
2	26-50 % = แสดงอาการต้นโทรม
3	51-75 % = แสดงอาการต้นโทรม โดยมีอาการตายจากยอดร่วมด้วย
4	76 - 100 % = แสดงอาการต้นโทรมมากกว่าและมีอาการตายจากยอดเกือบทุกยอด รวมถึงอาการยืนต้นตาย

2. การตรวจหาปริมาณธาตุอาหารและปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินสวนส้ม

สุ่มเก็บจากบริเวณรอบๆ โคนต้นของส้มที่แสดงอาการต้นโทรม ตัวอย่างละประมาณ 0.5 กิโลกรัม โดยนำส่งตรวจที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3. การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบส้ม

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบพืชใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงค่าดัชนีความเขียวความเข้มของสีใบ ใบพืชที่มีสีเขียวเข้มจะมีปริมาณของคลอโรฟิลล์ที่ค่อนข้างสูง ในการตรวจวัดหาปริมาณของคลอโรฟิลล์นั้นทำได้หลายเทคนิค เช่น ใช้หลักการของ spectrophotometry หรือใช้หลักการ titration เป็นต้น สำหรับการทดลองนี้ ได้ใช้เครื่องมือวัดที่ไม่ทำลายตัวอย่างใบพืช นั่นคือทำการวัดด้วยเครื่อง chlorophyll meter (รูปที่ 27) หน่วยที่วัดได้เรียกว่า SPAD โดยทำการวัดที่ใบ 5 ใบต่อต้น และจะได้ค่าเฉลี่ยออกมาเป็นตัวเลขที่วัดได้ จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาหาความสัมพันธ์ของหน่วยที่วัดเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบระดับสีและปริมาณของคลอโรฟิลล์ ถ้าพบว่าใบพืชนั้นมีค่าคลอโรฟิลล์ต่ำ นั้นหมายความว่าอัตราการเกิดใบด่างหรือใบขีดเหลืองจะสูงซึ่งสอดคล้องกับการได้รับธาตุอาหารไนโตรเจน ถ้าหากพืชได้รับธาตุอาหารในกลุ่มของปุ๋ยยูเรียมาก ใบพืชจะมีความเขียวเข้ม และค่าคลอโรฟิลล์จะสูง บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของต้นพืช



รูปที่ 27. เครื่อง chlorophyll meter ยี่ห้อ Minolta รุ่น SPAD502

4. การนับจำนวนยอดส้ม

ทำการเลือกกิ่งส้ม ต้นละ 3 กิ่ง รอบต้นส้ม นับจำนวนยอดที่แตกบนกิ่งดังกล่าว ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ เป็นต้นไป นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ

5. การวัดความยาวยอดส้ม

การวัดความยาวยอดส้ม ทำการวัดจากโคนถึงปลายใบที่อยู่ยอดสุด (รูปที่ 28) จำนวน 10 ยอด ซึ่งเลือกจาก 3 กิ่งที่ใช้ในการนับจำนวนยอด นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ



รูปที่ 28. การวัดความยาวยอด

6. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้ม

ในแต่ละกรรมวิธี ด้วยเครื่อง pH meter แบบพกพา โดยวัดดินบริเวณโคนต้น ห่างจากโคนต้นประมาณ 1 ฟุต ทั้ง 2 ด้านของต้น นำมาหาค่าเฉลี่ย ของแต่ละต้น และนำค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน ในแต่ละต้นมาคำนวณทางสถิติ

7. จำนวนผลส้มบนกิ่ง

การนับจำนวนผลส้มในแต่ละกรรมวิธี ทำได้โดยการเลือกกิ่งส้ม ต้นละ 1 กิ่ง นับจำนวนผลที่เจริญบนกิ่งดังกล่าว ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม เป็นต้นไป นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี เพื่อมาคำนวณทางสถิติ

8. การวัดขนาดผล ทำการวัดขนาดผลในแต่ละกิ่ง

9. การวัดความหวาน

คือการวัดปริมาณน้ำตาลในของเหลว โดยใช้เครื่อง Refractometer ซึ่งค่าความหวานนี้จะแสดงในรูปของ %Brix (ปริมาณน้ำตาลในของเหลวตัวอย่าง เทียบกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การประเมินระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมหลังการรักษาสวนปางเลี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการสำรวจและการประเมินความรุนแรงโรคต้นโทรมของส้มหลังจากการรักษา พบว่าระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมทั้ง 3 กรรมวิธีอยู่ที่ระดับ 2-3 เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 16, รูปที่ 29 และ 30)

ตารางที่ 16 ผลการประเมินโรคต้นโทรมสวนส้มปางเลี้ยว

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงโรค ^{1/}		
	1 พ.ย.59	2 พ.ค.60	3 ก.ย.60
1	3.45a	3.08a	3.01a
2	3.17a	2.61a	2.71a
3	3.45a	2.85a	2.78a
%CV	27.79	10.60	7.99
LSD(0.05)	0.41	0.52	0.39

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 29. ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนปางเลี้ยว เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559



รูปที่ 30. ลักษณะของต้นส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยว ในช่วงเดือนมกราคม – กันยายน 2560

2. การตรวจหาปริมาณธาตุอาหารและปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินสวนส้ม

ดินสวนส้มปางเสี้ยว : ดินมีความเป็นกลาง สภาพดินเค็มเล็กน้อย และเริ่มมีการสะสมเกลือ มีอินทรีย์วัตถุสูงมาก พบฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแคลเซียมในระดับสูงมาก ระดับของแมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง และสังกะสี อยู่ในระดับที่สูง (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนส้มปางเสี้ยวก่อนการทดลอง

รายการที่วิเคราะห์		หน่วย	ผลการวิเคราะห์
ความเป็นกรด – ด่าง (pH, 1:1)		-	7.24
ค่าการนำไฟฟ้า (EC, 1:1)		$\mu\text{S}/\text{cm}$	563
อินทรีย์วัตถุ (Walkley & Black)		%	6.23
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Brayll)		ในล้านส่วน	224
สกัดด้วย 1N NH_4OAc pH 7.0	โพแทสเซียม (K)	ในล้านส่วน	797
	แคลเซียม (Ca)	ในล้านส่วน	5,993
	แมกนีเซียม (Mg)	ในล้านส่วน	403
สกัดด้วย DTPA	เหล็ก (Fe)	ในล้านส่วน	18.2
	แมงกานีส (Mn)	ในล้านส่วน	15.7
	ทองแดง (Cu)	ในล้านส่วน	5.46
	สังกะสี (Zn)	ในล้านส่วน	12.6

สวนปทุมเงิน (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการสำรวจและการประเมินความรุนแรงโรคต้นโทรมของส้มหลังจากรักษา พบว่ากรรมวิธีที่ 3 เป็นกรรมวิธีของเกษตรกรที่ใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรมของส้มมีแนวโน้มไปในทางที่ดีกว่าโดยระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมในกรรมวิธีที่ 3 อยู่ที่ระดับ 1 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 2 และชุดควบคุม ที่ระดับความรุนแรงอยู่ที่ระดับ 2 เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 18 และรูปที่ 31)

ตารางที่ 18 ผลการประเมินโรคสวนส้มปูหมื่น

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงโรค ^{1/}		
	1 พ.ย.59	2 พ.ค.60	3 ก.ย.60
1	1.78a	2.03a	2.57a
2	1.73a	1.96a	2.41a
3	1.90a	1.74a	1.49b
%CV	44.67	11.62	15.62
LSD(0.05)	0.29	0.38	0.58

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น และ $P=0.05$





รูปที่ 31. ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนปทุมธานี และลักษณะอาการของโรคต้นโทรมที่เกิดกับผลส้ม (ก. ผลส้มที่เป็นปกติ ข. ผลส้มที่ไม่มีคุณภาพ) เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559

ดินสวนส้มปทุมธานี : ดินเป็นกรดรุนแรงมาก ดินเค็มเล็กน้อย และเริ่มมีการสะสมเกลือ อินทรีย์วัตถุในดินอยู่ในระดับปานกลาง ดินมีฟอสฟอรัส เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และโพแทสเซียมสูงมาก แต่มีแคลเซียมในปริมาณต่ำมาก (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนส้มปทุมธานีก่อนการทดลอง

รายการที่วิเคราะห์		หน่วย	ผลการวิเคราะห์
ความเป็นกรด – ด่าง (pH, 1:1)		-	3.71
ค่าการนำไฟฟ้า (EC, 1:1)		$\mu\text{S}/\text{cm}$	499
อินทรีย์วัตถุ (Walkley & Black)		%	1.98
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Brayll)		ในล้านส่วน	966
สกัดด้วย 1N NH_4OAc pH 7.0	โพแทสเซียม (K)	ในล้านส่วน	313
	แคลเซียม (Ca)	ในล้านส่วน	249
	แมกนีเซียม (Mg)	ในล้านส่วน	68.0
สกัดด้วย DTPA	เหล็ก (Fe)	ในล้านส่วน	241
	แมงกานีส (Mn)	ในล้านส่วน	6.70
	ทองแดง (Cu)	ในล้านส่วน	34.0
	สังกะสี (Zn)	ในล้านส่วน	4.50

สวนลิทวงค์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการสำรวจและการประเมินความรุนแรงโรคต้นโทรมของส้มหลังจากรักษา พบว่าระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมทั้ง 3 กรรมวิธีอยู่ที่ระดับ 1-2 เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 20 และรูปที่ 32)

ตารางที่ 20 ผลประเมินความรุนแรงของโรคต้นโทรมสวนลิทวงค์

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงโรค		
	1 พ.ย.59	2 พ.ค.60	3 ก.ย.60
1	1.80a	1.81a	1.62a
2	1.92a	1.46a	1.50a
3	2.05a	1.67a	1.60a
%CV	32.27	18.40	13.34
LSD(0.05)	0.27	0.52	0.36

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 32. ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนสวนลิทวงค์ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559

ดินสวนลิทวงค์ : ดินเป็นกรดปานกลาง ดินเค็มเล็กน้อย และเริ่มมีการสะสมของเกลือ อินทรีย์วัตถุค่อนข้างสูง มีฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก และทองแดงสูงมาก มีแคลเซียม สังกะสี ในปริมาณที่สูง แมกนีเซียมและแมงกานีสอยู่ในระดับปานกลาง (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ผลการวิเคราะห์ดินจากตัวอย่างดินสวนลิทวงค์ก่อนการทดลอง

รายการที่วิเคราะห์		หน่วย	ผลการวิเคราะห์
ความเป็นกรด – ด่าง (pH, 1:1)		-	6.04
ค่าการนำไฟฟ้า (EC, 1:1)		$\mu\text{S}/\text{cm}$	668
อินทรีย์วัตถุ (Walkley & Black)		%	3.22
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Brayll)		ในล้านส่วน	815
สกัดด้วย 1N NH_4OAc pH 7.0	โพแทสเซียม (K)	ในล้านส่วน	838
	แคลเซียม (Ca)	ในล้านส่วน	2,933
	แมกนีเซียม (Mg)	ในล้านส่วน	353
สกัดด้วย DTPA	เหล็ก (Fe)	ในล้านส่วน	166
	แมงกานีส (Mn)	ในล้านส่วน	12.1
	ทองแดง (Cu)	ในล้านส่วน	18.2
	สังกะสี (Zn)	ในล้านส่วน	51.1

สวนสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการสำรวจและการประเมินความรุนแรงโรคต้นโทรมของส้มหลังจากรักษา พบว่ากรรมวิธีที่ 1 เป็นกรรมวิธีของเกษตรกรที่ใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรมของส้มมีแนวโน้มไปในทางที่ดีกว่าโดยระดับความรุนแรงของโรคต้นโทรมอยู่ที่ระดับ 1.37 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 2 การจัดการโดยไบโอเทคนิคมีระดับความรุนแรงอยู่ที่ระดับ 1.50 เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบทั้ง 2 กรรมวิธี พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 22 และรูปที่ 33)

ตารางที่ 22 ผลการประเมินโรคต้นโทรม สวนส้มส้มเกียรติ

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงโรค ^{1/}	
	2 พ.ค.60	3 ก.ย.60
1	1.48b	1.37b
2	1.84a	1.50a
%CV	12.65	14.85
LSD(0.05)	0.1	0.1

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 32 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 33. ลักษณะของต้นส้มและความรุนแรงของโรคต้นโทรมในแปลงสาธิตสวนส้มเกียรติเดือนเมษายน พ.ศ. 2560

3. การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบส้ม

สวนปางเสี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการเก็บข้อมูลในส่วนของค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน 2560 พบว่ากรรมวิธีที่ 2 เป็นกรรมวิธีการใช้ไบโอเทคนิค (Bio-technique) ในการจัดการโรคต้นโทรมของส้มมีแนวโน้มไปในทางที่ดี โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบส้ม เท่ากับ 44.86 SPAD Unit รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 3 การจัดการโดยใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรม มีค่าคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 39.5 SPAD Unit โดยชุดควบคุมมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุด เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มของสวนปางเสี้ยว

กรรมวิธี	ค่าคลอโรฟิลล์ (SPAD Unit) ^{1/}	
	พ.ค.60	มิ.ย.60
1	38.72a	33.28b
2	43.21a	44.86a
3	42.08a	39.5a
%CV	13.89	8.53
LSD(0.05)	9.93	5.78

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนปทุมวัน (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการเก็บข้อมูลในส่วนของค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มในเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม 2560 พบว่ากรรมวิธีที่ 3 เป็นกรรมวิธีการจัดการโดยใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรม มีค่าคลอโรฟิลล์สูงสุด เท่ากับ 63.51 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 การใช้ไบโอเทคนิค (Bio-technique) เท่ากับ 54.21 SPAD unit โดยชุดควบคุมมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุด เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24. ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 3 กรรมวิธี

กรรมวิธี	ค่าคลอโรฟิลล์(SPAD Unit) ^{1/}	
	มิ.ย.60	ก.ค.60
1	56.25b	50.79b
2	57.06b	54.21b
3	63.76a	63.51a
%CV	5.19	3.44
LSD(0.05)	5.3	3.34

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนสิทธิวงศ์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการวัดค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้ม พบว่ากรรมวิธีที่ 2 การใช้ไบโอเทคนิค (Bio-technique) เท่ากับ 65.27 SPAD unit และกรรมวิธีที่ 3 เท่ากับ 66.59 SPAD unit ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีมีแนวโน้มไปในทางที่ดีกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25. ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 3 กรรมวิธีของสวนสิทธิวงศ์

กรรมวิธี	ค่าคลอโรฟิลล์ (SPAD Unit) ^{1/}	
	มิ.ย.-60	ก.ค.-60
1	62.86b	61.48b
2	65.24a	65.27a
3	65.57a	66.59a
%CV	1.55	3.27
LSD(0.05)	1.72	3.64

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการวัดค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้ม พบว่ากรรมวิธีที่ 1 เป็นกรรมวิธีการจัดการโดยใช้สารเคมีในการจัดการโรคต้นโทรม มีค่าคลอโรฟิลล์เท่ากับ 60.08 SPAD Unit และกรรมวิธีที่ 2 ค่าคลอโรฟิลล์เท่ากับ 61.0 SPAD Unit ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีเมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 26)

ตารางที่ 26. ตารางแสดงค่าคลอโรฟิลล์ในใบส้มใน 2 กรรมวิธีสวนสมเกียรติ

กรรมวิธี	ค่าคลอโรฟิลล์(SPAD Unit) ^{1/}
	ก.ค.-60
1	60.08a
2	61.04a
%CV	9.64
LSD(0.05)	2.97

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 32 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

4. การนับจำนวนยอดส้ม

สวนปางเสี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการเก็บข้อมูลและนับจำนวนยอดส้มที่แตกใหม่บนกิ่งส้ม ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2560 จนถึงเดือนตุลาคม 2560 พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ พบจำนวนการแตกยอดใหม่อยู่ในช่วง 4-6 ยอดต่อกิ่ง (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27 จำนวนยอดส้มที่ทำการนับของสวนปางเสี้ยวตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนตุลาคม 2560

กรรมวิธี	จำนวนยอด ^{1/}							
	ก.พ. 60	มี.ค. 60	เม.ย. 60	พ.ค. 60	มิ.ย. 60	ก.ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค.60
1	14.17a	27.75a	26.23a	28.75a	31.55a	52.86a	55.30a	6.02a
2	10.52a	18.95a	17.53a	22.52a	27.47a	45.25a	51.85a	5.05a
3	10.80a	29.28a	27.8a	33.4a	40.7a	61.35a	66.82a	4.96a
%CV	39.54	29.63	28.32	46.58	52.72	47.02	41.8	34.12
LSD(0.05)	8.22	12.98	11.68	22.74	30.32	43.25	41.93	2.96

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

5. การวัดความยาวยอดส้ม

จากการเก็บข้อมูล และวัดความยาวยอดทั้งใน 3 กรรมวิธี ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2560 ถึงเดือนตุลาคม 2560 พบว่าทั้ง 3 มีความยาวยอดไม่ต่างกัน มีความยาวยอดส้มอยู่ในช่วง 11.04-11.99 เซนติเมตร เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 28)

ตารางที่ 28 ความยาวยอดส้มของสวนปางเสี้ยวที่ทำการวัดตั้งแต่เดือนมีนาคม ถึง เดือนตุลาคม

กรรมวิธี	ความยาวยอด (ซม.) ^{1/}						
	มี.ค. 60	เม.ย. 60	พ.ค. 60	มิ.ย. 60	ก.ค. 60	ก.ย. 60	ต.ต.-60
1	2.17a	5.65a	7.05a	7.62a	7.63a	11.27a	11.08a
2	2.27a	5.33a	8.55a	9.10a	7.30a	12.02a	11.99a
3	2.29a	5.60a	7.35a	7.47a	7.40a	10.18a	11.04a
%CV	47.18	26.90	24.95	27.61	20.41	11.96	11.82
LSD(0.05)	1.83	2.57	3.30	3.58	2.63	2.30	2.14

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

6. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้ม



รูปที่ 34. เครื่อง pH meter แบบพกพา ยี่ห้อ Takemura รุ่น DM-13

สวนปางเสี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการศึกษาการวัดค่า pH บริเวณโคนต้นส้มพบว่า ในช่วงเดือน พฤษภาคม และ กันยายน ในแต่ละกรรมวิธีการทดลองแสดงค่า pH ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) โดยทั้ง 3 กรรมวิธี แสดงค่า pH ที่มีแนวโน้มลดลง และ ช่วงเดือน ตุลาคม พบว่าค่า pH ของทุกกรรมวิธีมีค่าเพิ่มขึ้น กรรมวิธีที่ 3 แสดงค่า pH ที่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ในขณะที่ กรรมวิธีที่ 2 แสดงค่า pH ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (ตารางที่ 29)

ตารางที่ 29 ตารางแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนปางเสี้ยวในแต่ละกรรมวิธี เดือน พฤษภาคม และเดือนตุลาคม 2560

กรรมวิธี	ค่า pH ^{1/}		
	พ.ค. 60	ก.ย. 60	ต.ค. 60
1	5.37a	4.92a	5.44b
2	5.14a	4.86a	5.65ab
3	5.46a	5.24a	5.87a
%CV	3.62	9.18	4.48
LSD(0.05)	0.33	0.79	0.4

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนปทุมเงิน(ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการศึกษาการวัดค่า pH บริเวณโคนต้นส้มพบว่า ในช่วงเดือน มิถุนายน กรรมวิธีที่ 3 มีค่า pH ที่ 3.8 ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม และช่วงเดือน กันยายน ค่า pH ของแต่ละกรรมวิธีมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของข้อมูล ในขณะที่ช่วงเดือน ตุลาคม พบว่าค่า pH ของกรรมวิธีที่ 3 มีค่าลดลงและแสดงค่าแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2 แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (ตารางที่ 30)

ตารางที่ 30 ตารางแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนปทุมเงินในแต่ละกรรมวิธีในเดือน พฤษภาคม และเดือน กันยายน 2560

กรรมวิธี	ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ^{1/}		
	มิ.ย.60	ก.ย.60	ต.ค.60
1	4.81a	4.52ab	5.24a
2	4.92a	4.59a	5.27a
3	3.80b	4.30b	3.88b
%CV	6.16	3.70	7.68
LSD(0.05)	0.49	0.28	0.63

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติของที่ระดับความเชื่อมั่น และ $P=0.05$

สวนลิทวงค์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการศึกษาการวัดค่า pH บริเวณโคนต้นส้มพบว่า ในช่วงเดือน กันยายน และ ตุลาคม ในแต่ละกรรมวิธีการทดลองแสดงค่า pH ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) โดยทั้ง 3 กรรมวิธีมีค่า pH อยู่ในช่วง 5.10-5.54 (ตารางที่ 31)

ตารางที่ 31 ตารางแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนลิทวงค์ในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ^{1/}	
	ก.ย.60	ต.ค.60
1	5.51a	5.49a
2	5.54a	5.10a
3	5.49a	5.48a
%CV	3.97	5.7
LSD(0.05)	0.38	0.52

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติของที่ระดับความเชื่อมั่น และ $P=0.05$

สวนสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการศึกษาการวัดค่า pH บริเวณโคนต้นส้มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2560 พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีการทดลองแสดงค่า pH ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) โดยทั้ง 3 กรรมวิธีมีค่า pH อยู่ในช่วง 5.22-5.73 (ตารางที่ 32)

ตารางที่ 32 ตารางแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างในดินปลูกส้มของสวนสมเกียรติ

กรรมวิธี	ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ^{1/}		
	ก.ค.60	ก.ย.60	ต.ค.
1	5.67a	5.22a	5.56a
2	5.73a	5.28a	5.29a
%CV	9.63	11.64	13.39
LSD(0.05)	0.28	0.31	0.37

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 32 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

7. จำนวนผลสัมบูรณ์

สวนปางเสี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการเก็บข้อมูลจำนวนผล พบว่าช่วงเดือน กรกฎาคม และ กันยายน มีจำนวนผลเฉลี่ย 1-4 ผล เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ทั้ง 3 กรรมวิธี (ตารางที่ 33)

ตารางที่ 33 จำนวนผลบนกิ่งส้มของสวนปางเสี้ยว

กรรมวิธี	จำนวนผล ^{1/}	
	ก.ค. 60	ก.ย. 60
1	2.35a	0.60a
2	3.40a	0.25a
3	1.60a	0.20a
%CV	46.61	60.98
LSD(0.05)	1.97	0.18

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนปทุมวัน (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการเก็บข้อมูลจำนวนผลส้ม พบว่า จำนวนผลของทั้ง 3 กรรมวิธีมีแนวโน้มลดลง เมื่อวิเคราะห์ค่าสถิติพบว่าจำนวนผลที่ลดลงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 34)

ตารางที่ 34 จำนวนผลบนกิ่งส้มของสวนปทุมวัน

Treatment	จำนวนผล ^{1/}		
	มิ.ย.60	ก.ค.60	ก.ย.60
1	24.65a	23.93a	17.75a
2	25.27a	23.48a	21.00a
3	28.23a	22.39a	20.50a
%CV	9.69	13.81	46.81
LSD(0.05)	4.36	5.56	2.74

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนลิทวงค์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการเก็บข้อมูลจำนวนผลส้ม พบว่า ในช่วงเดือน มิถุนายน และ กรกฎาคม ในแต่ละกรรมวิธี มีค่าจำนวนผลที่ลดลงแต่ค่าจำนวนผลที่วัดได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ ช่วงเดือน กันยายน พบว่าจำนวนผลร่วงของส้มในกรรมวิธีที่ 3 ลดลงน้อยกว่า กรรมวิธีชุดควบคุม เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่ากรรมวิธีที่ 3 มีจำนวนผลบนกิ่งเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อดูค่าจำนวน

ผลของกรรมวิธีที่ 2 พบว่า มีค่าเฉลี่ยจำนวนผลไม่แตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม (ตารางที่ 35)

ตารางที่ 35 จำนวนผลบนกิ่งส้มของสวนสิทธิวงศ์

Treatment	จำนวนผล ^{1/}		
	มิ.ย.	ก.ค.	ก.ย.
1	16.45a	14.02a	16.20a
2	16.25a	15.62a	15.82ab
3	13.87a	14.15a	11.67b
%CV	14.92	15.34	26.42
LSD(0.05)	4	3.87	7.11

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการเก็บข้อมูลจำนวนผลส้มพบว่า ในช่วงเดือน กรกฎาคม จำนวนผลบนกิ่งมีค่าเฉลี่ย 5-6 ผล ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ในขณะที่ ในช่วงเดือน กันยายน กรรมวิธีที่ 1 มีจำนวนผลเฉลี่ย 11 ผล กรรมวิธีที่ 2 มีจำนวนผลเฉลี่ย 4-5 ผล โดยแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 36)

ตารางที่ 36 จำนวนผลส้มบนกิ่งส้มของสวนสมเกียรติ

กรรมวิธี	จำนวนผล ^{1/}	
	ก.ค.60	ก.ย.60
1 (chem)	5.53a	10.59a
2 (bio)	6.12a	4.25b
%CV	51.65	65.14
LSD(0.05)	1.53	2.46

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 32 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

8. การวัดขนาดผล ทำการวัดขนาดผลในแต่ละกิ่ง

สวนปางเลี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

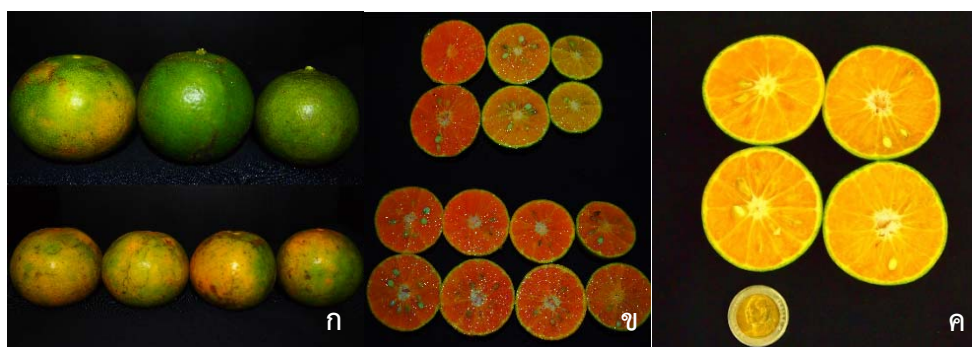
จากเก็บข้อมูลและวัดขนาดผลส้ม พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธี ผลส้มมีขนาดเล็กขนาดประมาณ 1.18-1.94 เซนติเมตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 37) ในส่วนของลักษณะผลส้มที่สุ่มคัดเลือกจากแปลงปลูกทั้ง 3 กรรมวิธี ซึ่งคัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกันในแต่ละ

กรรมวิธี นำผลส้มที่ได้ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ โดยการตรวจดูลักษณะภายนอกและภายใน ผลการศึกษาพบว่า กรรมวิธีที่ 2 คือการจัดการโดยไบโอเทคนิค เมล็ดด้านในผลส้มมีอาการฟามน้อยที่สุด และเมื่อตรวจผลในเดือนตุลาคม พบว่า กรรมวิธีที่ 3 มีอาการฟามมากที่สุด (รูปที่ 35, 36 และ 37)

ตารางที่ 37 ขนาดผลส้มของสวนปางเสี้ยว

กรรมวิธี	ขนาดผล (เซนติเมตร) ^{1/}
1	1.18a
2	1.75a
3	1.94a
%CV	31.77
LSD(0.05)	1.1

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

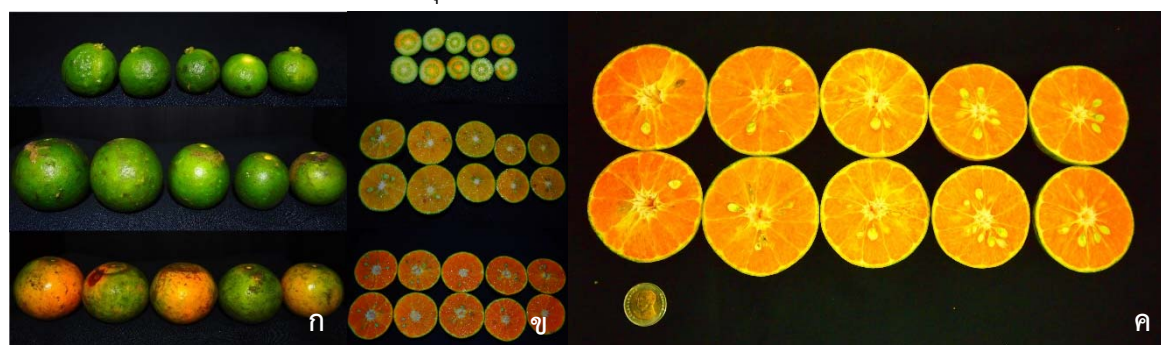


รูปที่ 35. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 1

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน

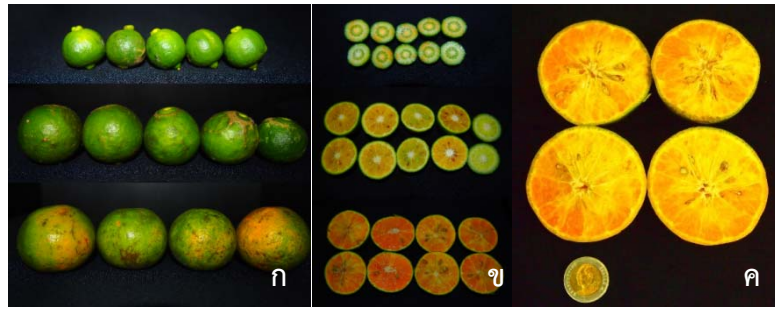


รูปที่ 36. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 2

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน



รูปที่ 37.: ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนส้มปางเสี้ยวกรรมวิธีที่ 3

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน

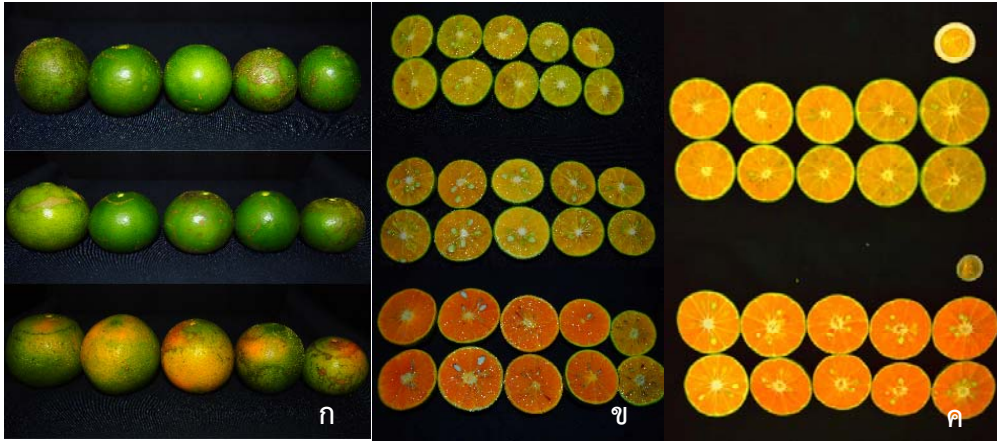
สวนปทุมวัน (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการศึกษาขนาดของผลส้ม พบว่ากรรมวิธีที่ 3 มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 4.34 เซนติเมตร รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 3.65 เซนติเมตร ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 38) และจากแปลงสวนปทุมวัน ทั้ง 3 กรรมวิธี ทำการคัดเลือกผลส้มที่มีขนาดใกล้เคียงกันในแต่ละกรรมวิธี นำผลส้มที่ได้ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ โดยการตรวจดูลักษณะภายนอกและภายใน ผลการศึกษาพบว่า กรรมวิธีที่ 3 เมล็ด ด้านในผลส้ม มีอาการฟัมน้อยที่สุด (รูปที่ 38, 39 และ 40)

ตารางที่ 38 ขนาดผลส้มใน 3 กรรมวิธีของสวนปทุมวัน

กรรมวิธี	ขนาดผล (เซนติเมตร) ^{1/}
	ก.ย. 60
1	3.57b
2	3.65b
3	4.34a
%CV	4.32
LSD(0.05)	0.28

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 38. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 1

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน

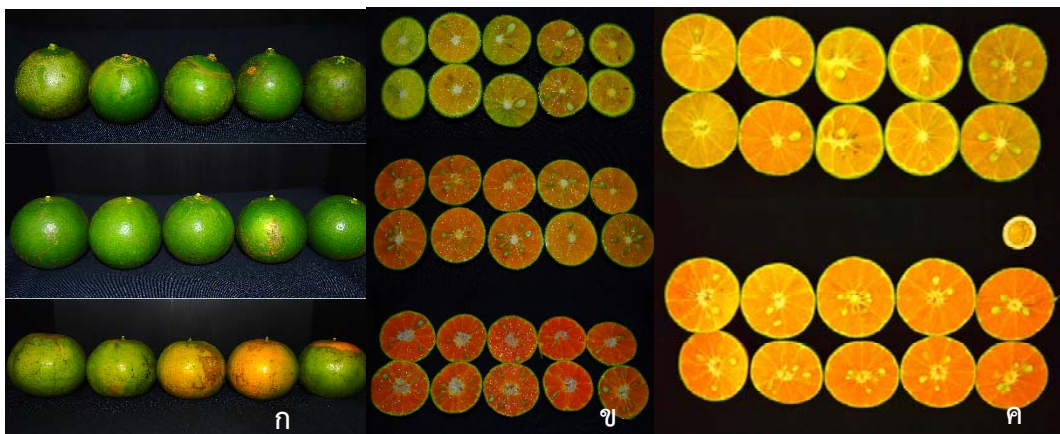


รูปที่ 39. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 2

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน



รูปที่ 40.: ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนปู่หมื่นกรรมวิธีที่ 3

- ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน
 ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน
 ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน

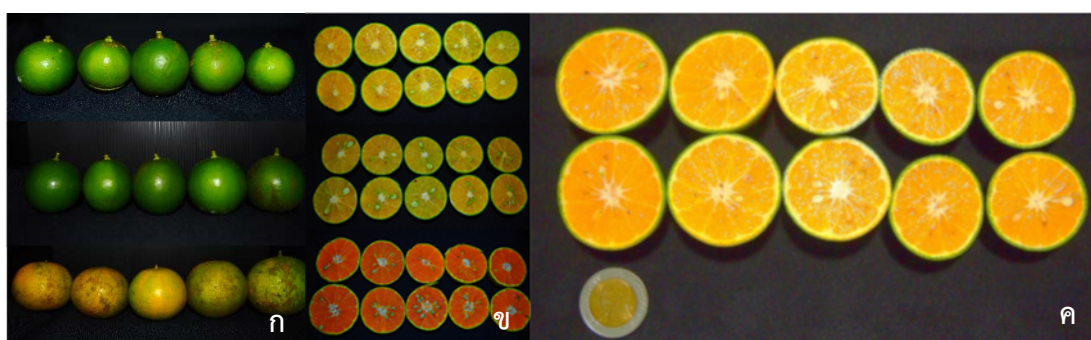
สวณสิทธิ์วงค์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการศึกษาขนาดของผลส้ม ทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยขนาดของผลส้มอยู่ที่ 3.36-3.82 เซนติเมตร (ตารางที่ 39) และการสุ่มคัดเลือกผลส้มจากแปลงของสวณสิทธิ์วงค์ทั้ง 3 กรรมวิธี ซึ่งคัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกันในแต่ละกรรมวิธี นำผลส้มที่ได้ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ โดยการตรวจดูลักษณะภายนอกและภายใน ผลการศึกษาพบว่า กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดด้านในผลส้ม มีอาการฟ้ามวุ่นน้อยที่สุด (รูปที่ 41, 42 และ 43)

ตารางที่ 39 ตารางแสดงขนาดผลส้มใน 3 กรรมวิธีของสวณสิทธิ์วงค์

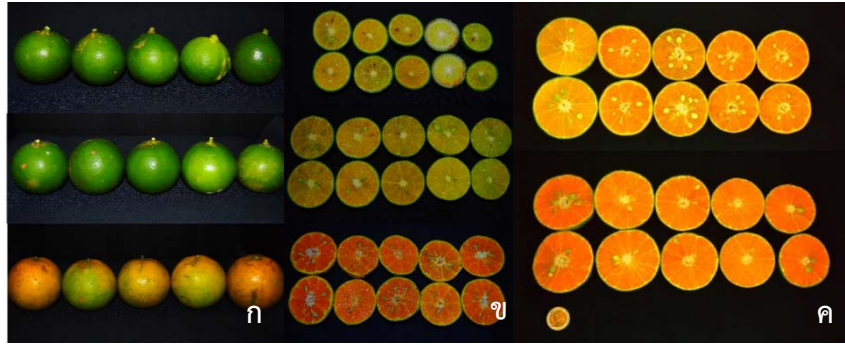
กรรมวิธี	ขนาดผล (เซนติเมตร) ^{1/}
	ก.ย. 60
1	3.82a
2	3.77a
3	3.36a
%CV	8.49
LSD(0.05)	0.53

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 41. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวณสิทธิ์วงค์กรรมวิธีที่ 1

- ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน
 ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน
 ค. ลักษณะเนื้อส้มภายในผลอายุ 10 เดือน

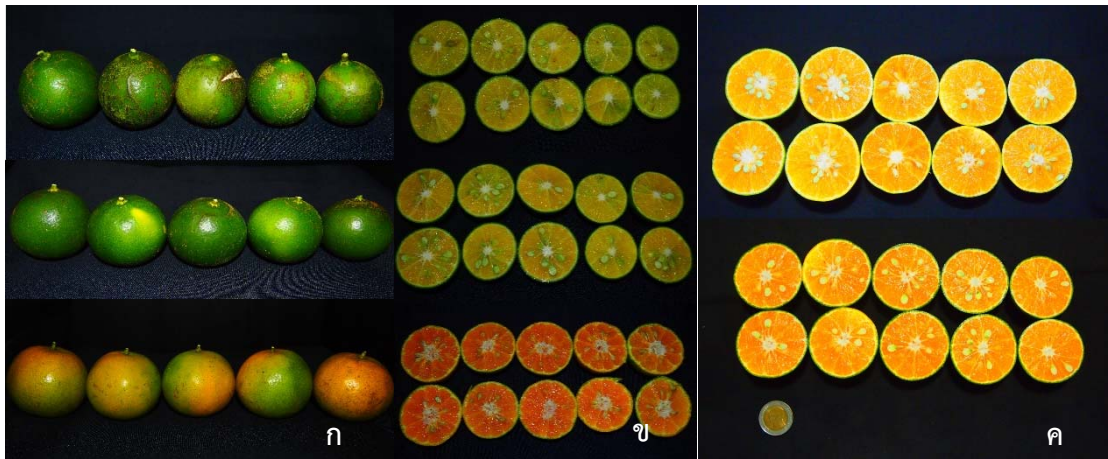


รูปที่ 42. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสิทธิธรรมวิธีที่ 2

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในอายุ 10 เดือน



รูปที่ 43. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสิทธิธรรมวิธีที่ 3

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในอายุ 10 เดือน

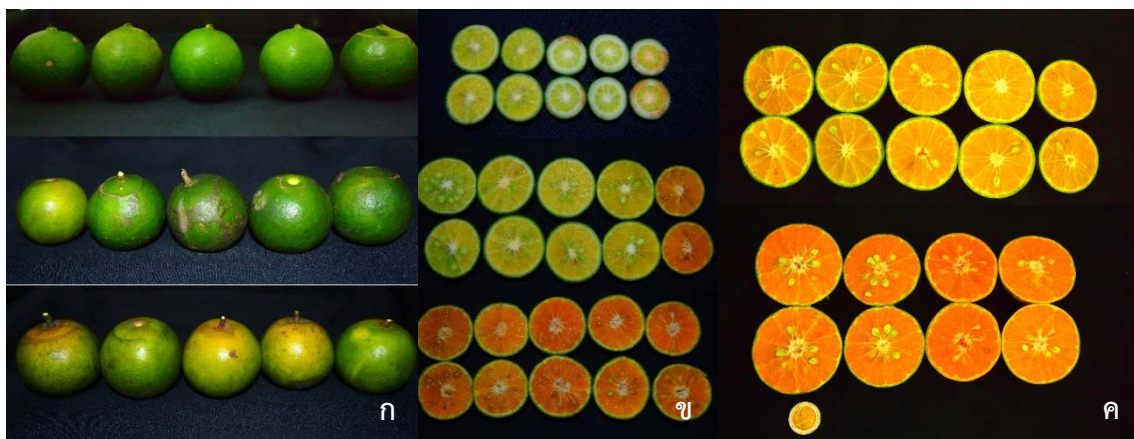
สวนสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการศึกษา ขนาดของผลส้ม พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยขนาดผลส้มทั้ง 2 กรรมวิธีที่อยู่ที่ 2.39-2.40 เซนติเมตร (ตารางที่ 40) อย่างไรก็ตาม จากการสุ่มคัดเลือกผลส้มจากแปลงสวนสมเกียรติ ทั้ง 2 กรรมวิธี ซึ่งคัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกันในแต่ละกรรมวิธี นำผลส้มที่ได้ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ โดยการตรวจดูลักษณะภายนอกและภายใน ผลการศึกษาพบว่า กรรมวิธีที่ 2 ซึ่งเป็นวิธีการใช้ Bio-technique ในการจัดการโรคต้นโทรม เมล็ดด้านในผลส้ม มีอาการฟามน้อยที่สุด (รูปที่ 44 และ 45)

ตารางที่ 40 ตารางแสดงขนาดผลส้มใน 2 กรรมวิธีของสวนสมเกียรติ

Treatment	ขนาดผล (เซนติเมตร) ^{1/}
	ก.ย.60
1	2.39a
2	2.40a
%CV	40.80
LSD(0.05)	0.50

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 32 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$



รูปที่ 44. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสมเกียรติกรรมวิธีที่ 1

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน



รูปที่ 45. ลักษณะของผลส้มในแปลงทดลองสวนสมเกียรติกรรมวิธีที่ 2

ก. ลักษณะของขนาดผลและผิวภายนอกอายุ 4 เดือน

ข. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 4 เดือน

ค. ลักษณะเนื้อส้มและเมล็ดภายในผลอายุ 10 เดือน

9. การวัดความหวาน

สวนปางเสี้ยว (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการตรวจสอบค่าความหวาน (%Brix) ในน้ำคั้นส้มของสวนปางเสี้ยว ขนาดผลที่สามารถนำมาตรวจสอบมีแค่ 1 ขนาด เนื่องจากมีการติดผลน้อย จากการวัดค่าความหวาน พบว่ากรรมวิธีที่ 2 หวานที่สุดคือ มีค่าความหวานเท่ากับ 10.73%brix รองลงมากรรมวิธีที่ 1 เท่ากับ 9.68 %brix ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 41)

ตารางที่ 41 การวัดความหวานของสวนปางเสี้ยวเดือนตุลาคม

ขนาดผล	ความหวาน (%Brix) ^{1/}
ผลใหญ่ กรรมวิธีที่ 1	9.68a
ผลใหญ่ กรรมวิธีที่ 2	10.72a
ผลใหญ่ กรรมวิธีที่ 3	6.88b
%CV	9.96
LSD(0.05)	1.23

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวนปทุมเงิน (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการตรวจสอบค่าความหวานของผลส้มแต่ละขนาด พบว่า ผลส้มขนาดใหญ่และขนาดเล็กของกรรมวิธีที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ความหวานสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยผลใหญ่มีความหวาน เท่ากับ 9.16 %Brix รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 เท่ากับ 8.88 % Brix ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลเล็กมีความหวานของกรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 8.86 % Brix รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 1 มีค่าความหวานเท่ากับ 6.69 % Brix ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับผลส้มขนาดกลาง พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน โดยค่าความหวานอยู่ในช่วง 8.48-9.48 %Brix (ตารางที่ 42)

ตารางที่ 42 การวัดความหวานของผลส้มในขนาดผลต่างๆของสวนปทุมเงินในเดือนตุลาคม

ผลส้ม (ขนาดใหญ่)		ผลส้ม (ขนาดกลาง)		ผลส้ม (ขนาดเล็ก)	
กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}
กรรมวิธีที่ 1	8.88a	กรรมวิธีที่ 1	9.48a	กรรมวิธีที่ 1	6.68b
กรรมวิธีที่ 2	9.16a	กรรมวิธีที่ 2	9.44a	กรรมวิธีที่ 2	8.36a
กรรมวิธีที่ 3	7.87b	กรรมวิธีที่ 3	8.48a	กรรมวิธีที่ 3	6.54b
%CV	6.34	%CV	10.49	%CV	12.71
LSD (0.05)	0.7539	LSD (0.05)	1.3198	LSD (0.05)	1.2599

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$

สวณสิทธิ์วงค์ (ต้นส้มอายุ 10 ปี)

จากการตรวจสอบค่าความหวาน พบว่า ผลส้มขนาดใหญ่และขนาดเล็กของกรรมวิธีที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ความหวานสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยผลใหญ่มีความหวาน เท่ากับ 11.20 %Brix รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 3 เท่ากับ 10.54 % Brix ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลเล็กมีความหวานของกรรมวิธีที่ 2 เท่ากับ 9.12 % Brix รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 3 มีค่าความหวานเท่ากับ 8.90 % Brix ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับผลส้มขนาดกลาง พบว่าทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน โดยค่าความหวานอยู่ในช่วง 9.20-9.80 %Brix (ตารางที่ 43)

ตารางที่ 43 การวัดความหวานของผลส้มในแต่ละขนาดของสวณสิทธิ์วงค์ในเดือนตุลาคม

ผลส้ม (ขนาดใหญ่)		ผลส้ม (ขนาดกลาง)		ผลส้ม (ขนาดเล็ก)	
กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}
กรรมวิธีที่ 1	9.74b	กรรมวิธีที่ 1	9.80a	กรรมวิธีที่ 1	7.44b
กรรมวิธีที่ 2	11.20a	กรรมวิธีที่ 2	9.20a	กรรมวิธีที่ 2	9.12a
กรรมวิธีที่ 3	10.54ab	กรรมวิธีที่ 3	9.58a	กรรมวิธีที่ 3	8.90a
%CV	6.19	%CV	13.16	%CV	8.69
LSD (0.05)	0.8952	LSD (0.05)	1.7279	LSD (0.05)	1.0157

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05

สวณสมเกียรติ (ต้นส้มอายุ 3-4 ปี)

จากการตรวจสอบค่าความหวานของผลในแต่ละขนาด พบว่า ความหวานของผลส้มทั้ง 3 ขนาดของทั้ง 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าความหวานของกรรมวิธีที่ 2 คือการใช้ Bio-technique ในการจัดการโรคต้นโทรมจะมีแนวโน้มไปในทางที่ดีกว่า แต่เมื่อคำนวณค่าทางสถิติพบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยช่วงความหวานของส้มอยู่ที่ 9.34-11.90 %Brix (ตารางที่ 44)

ตารางที่ 44 การวัดความหวานของผลส้มในแต่ละขนาดในสวนส้มเกียรติเดือนตุลาคม 2560

ผลส้ม (ขนาดใหญ่)		ผลส้ม (ขนาดกลาง)		ผลส้ม (ขนาดเล็ก)	
กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}	กรรมวิธี	ค่าความหวาน (%Brix) ^{1/}
กรรมวิธีที่ 1	10.00a	กรรมวิธีที่ 1	9.34b	กรรมวิธีที่ 1	11.90a
กรรมวิธีที่ 2	10.68a	กรรมวิธีที่ 2	10.84a	กรรมวิธีที่ 2	11.28a
%CV	9.44	%CV	9.23	%CV	15.07
LSD (0.05)	1.4241	LSD (0.05)	1.3588	LSD (0.05)	2.5475

1/ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรในคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05

สรุป

ทำการทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวานโดยใช้ไบโอเทคนิค คือการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของดิน ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบการจัดการตามแบบของเกษตรกร ในสวนส้มปูหมื่น สวนส้มเกียรติ สวนปางเสี้ยว และสวนสิทรวงศ์ โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรค วัดการเจริญเติบโตของต้นส้ม ได้แก่ จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบส้ม ขนาดใบส้ม จำนวนการติดผล ขนาดของผล ความหวาน และปริมาณผลผลิต เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าการแตกยอด ความยาวยอด ปริมาณคลอโรฟิลในใบ และการติดผลไม่แตกต่างกันทั้งสองวิธี แต่ขนาดของผลส้ม พบว่าสวนปางเสี้ยว สวนสิทรวงศ์ และสวนสมเกียรติมีขนาดผลส้มความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี โดยพบว่าเนื้อส้มในกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีเนื้อที่ฟามและจำนวนเมล็ดลีบมากกว่า แต่ในสวนปูหมื่นพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีมีขนาดผลที่ใหญ่กว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบความหวาน พบว่ากรรมวิธีไบโอเทคนิคมีความหวานมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีในทุกสวน ยกเว้นสวนปางเสี้ยว เนื่องจากต้นส้มมีการติดผลน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในโรงเรือน ดังนั้นไบโอเทคนิคสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อรักษาคุณภาพของดินในระยะยาว

บทที่ 9

การจัดทำแปลงสาธิตการจัดการโรคต้นโทรมของส้มเขียวหวาน

ชัยวัฒน์ โตอนันต์¹, รัชดาวรรณ ชีวังกูร¹, ฐิติมา วงษ์วาน¹ และปริญญ์ น้อยเรือง
Chaiwat To-anun¹, Ratchadawan Cheewangkoon¹, Thitima Wongwan¹ and Parinn Noireung¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai

50200

บทคัดย่อ

จากผลการทดสอบข้างต้นพบว่าการจัดการโรคต้นโทรมของส้มด้วยไบโอเทคนิค สามารถทำให้ส้มมีการเจริญเติบโตได้เท่ากับการจัดการของเกษตรกรที่ใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และเมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตพบว่าเกษตรกรต้องลงทุนสูงกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในระยะเริ่มต้นของการรักษา ซึ่งยังให้ผลผลิตไม่เป็นที่พอใจของเกษตรกรได้เท่าที่ควร คณะผู้วิจัยจึงลงความเห็นยังไม่ทำการจัดอบรมเผยแพร่องค์ความรู้ตามแผนงานที่ได้ตั้งไว้เดิม โดยได้ปรับแผนงานจากการรักษาด้านส้มที่แสดงอาการต้นโทรมซึ่งต้องใช้ทรัพยากรในการฟื้นฟูสภาพต้นส้มปริมาณมาก ส่งผลทำให้ต้นทุนสูง เป็นการใช้ไบโอเทคนิคตั้งแต่เริ่มปลูกส้ม ร่วมกับการปรับสภาพดินให้มีการระบายน้ำดี โดยผสมปุ๋ยอินทรีย์และทรายลงในหลุมปลูก และพัฒนาการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ในรูปเชื้อสด ที่เกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณใช้เองได้ และได้จัดเตรียมแปลงสาธิตในพื้นที่สวนปทุมรัตน์ แบ่งการทดลองออกเป็นสองกรรมวิธีคือการใช้ไบโอเทคนิคร่วมกับการปรับปรุงดิน และการจัดการโดยใช้ปุ๋ยเคมีตั้งแต่เริ่มการปลูก

คำสำคัญ: ไบโอเทคนิค

Abstract

Based on the above test results, it was found that the management of citrus stem disease with bio-techniques can makes citrus grow more than management of farmers who use chemical fertilizers primarily. When calculating production costs, it was found that farmers had to invest higher than the use of chemical fertilizers at the initial stage of treatment which still gives the farmers unsatisfactory productivity. The research team therefore commented that the training was not carried out to disseminate this knowledge as originally planned. By adjusting the plan from treating the citrus trees that show decline symptoms which requires resources to restore the citrus tree volume. Resulting in high costs Is the use of bio-techniques since planting citrus Together with adjusting soil conditions for

good drainage By mixing organic fertilizer and sand into the planting hole And develop the use of *Chaetomium* fungus in a fresh form that farmers can increase their use And prepared a demonstration plot in the Pu Muen area The experiment was divided into two methods: using bio-techniques together with soil improvement. And management using chemical fertilizers since planting.

Keywords: Biotechnology

คำนำ

แนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้มภายในโรงเรือนปลูกทดลองและในแปลงทดลองไปแล้วนั้น จึงได้ร่วมมือกับเกษตรกรที่สมัครเข้าร่วมในโครงการ จัดทำแปลงสวนส้มสาธิตที่สามารถใช้เป็นสถานที่ดูงาน ฝึกอบรม และเผยแพร่แนวทางการแก้ปัญหาโรคต้นโทรมของส้ม เพื่อแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกส้มในพื้นที่ใกล้เคียง ได้นำแนวทางการจัดการโรคต้นโทรมของส้มด้วยวิธีไบโอเทคนิคไปใช้บริหารจัดการสวนส้มของตน อย่างแม่นยำและยั่งยืนต่อไป ซึ่งจะช่วยลดการใช้สารเคมีในระบบการปลูกส้มลงได้ อีกทั้งยังเป็นการส่งเสริม การพึ่งพาตนเองของเกษตรกรตามนโยบายของภาครัฐ ช่วยลดมลพิษที่จะเกิดจากสารเคมีเกษตรที่ตกค้างใน สิ่งแวดล้อม และช่วยแก้ปัญหาที่มีการใช้สารปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสม อันจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคผลผลิตส้ม อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่จัดทำแปลงสาธิต : สวนส้มปู่หมื่น เลขที่ 302 หมู่ 4 ตำบลห้วยป่าซาง อำเภอมะนัง จังหวัดเชียงใหม่
การจัดทำแปลงสาธิต แบ่งออกเป็น 2 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ปรับสภาพของดินก่อนการปลูกเป็นเวลา 1 เดือน ในหลุมลึก 50 เซนติเมตร โดยการนำเชื้อคีโตเมียมอัตราส่วน 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรผสมกับปุ๋ยอินทรีย์คลุกให้เข้ากัน และนำไปรองก้นหลุม ในอัตรา 2 กิโลกรัมต่อน้ำ และคลุมด้วยเกลบ ในอัตรา 5 กิโลกรัมต่อน้ำ

กรรมวิธีที่ 2 ไม่มีการปรับสภาพของดินก่อนการปลูก มีการให้ปุ๋ยเคมีและฮอร์โมนพืชตามช่วง ระยะเวลาเจริญเติบโตของต้นส้ม (3 เดือนแรก ให้ปุ๋ยสูตร 25-7-7 เดือน ละ 1 ครั้ง และฉีดจิบเบอเรลลินสัปดาห์ละครั้ง)

ทั้งสองกรรมวิธีมีการให้น้ำแบบสปริงเกอร์ 2 วันต่อครั้ง

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการสำรวจการเจริญเติบโตของต้นส้มทั้ง 2 กรรมวิธี เป็นระยะเวลา 3 เดือน (รูปที่ 46) กรรมวิธีที่ 1 มีการปรับปรุงสภาพของดินและการใส่อินทรีย์วัตถุเพื่อให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ก่อนการปลูกต้น ส้มเพื่อตัดวงจรการเกิดโรค และกรรมวิธีที่ 2 เกษตรกรไม่มีการปรับปรุงสภาพของดินก่อนการปลูกส้ม พบว่า การเจริญเติบโตของต้นส้มทั้ง 2 กรรมวิธียังไม่เห็นถึงความแตกต่างกัน (รูปที่ 47)



รูปที่ 46. ลักษณะแปลงสาธิต และต้นส้มเขียวหวานภายหลังการลงปลูก 3 เดือน ถ่ายภาพวันที่ 21 ตุลาคม 2561



รูปที่ 47. ต้นส้มที่ทำการปลูกในแต่ละกรรมวิธีเป็นระยะเวลา 3 เดือน ถ่ายภาพวันที่ 21 ตุลาคม 2561

ก. กรรมวิธีที่ 1 การปรับสภาพดินก่อนการปลูก

ข. กรรมวิธีที่ 2 ไม่มีการปรับสภาพดินก่อนการปลูก

สรุป

จากผลการจัดทำแปลงสาธิตการรักษาโรคต้นโพธิ์ของส้มด้วยวิธีไบโอเทคนิคตั้งแต่เริ่มปลูกส้ม ร่วมกับการปรับสภาพดินให้มีการระบายน้ำได้ดีโดยผสมปุ๋ยอินทรีย์และทรายลงในหลุมปลูก และคลุมด้วย แกลบเปรียบเทียบกับจัดการของเกษตรกร ภายในระยะเวลา 3 เดือนหลังย้ายกล้าส้มลงปลูกในแปลง สามารถทำให้ต้นส้มมีการเจริญเติบโตได้เท่ากับการจัดการของเกษตรกรที่ใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องเก็บข้อมูลและติดตามผลการทดลองเพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

- ขจรศักดิ์ พิทักษ์ศรี 2557. ไม้ผลเศรษฐกิจ กทม. เกษตรสยาม. หน้า 55-64.
- ดารุณี ปุญญพิทักษ์, เยาวภา ตันตวานิช, บุรณี พัวพงษ์แพทย์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล 2552. การสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา. รายงานประจำปี กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 1858-1862.
- นลินี ศิวาภรณ์, พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ เพลินพิศ สงสังข์. 2553. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการลำดับที่1/2554. หน้า 2592 - 2612.
- อภิชาติ ศรีสะอาด (บรรณาธิการ) 2545. 8 เขียนสวนส้ม พิมพ์ครั้งที่ 3 นาคาอิตอร์มเดีย จำกัด. กรุงเทพฯ 138 หน้า.
- อำไพวรรณ ภราดรพันธุ์, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุลม วิเชียร กำจายภัย, สุพัฒน์ อรรถธรรม และ นิพนธ์ ทวีชัย 2527. โรคส้มในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 126 หน้า.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (Fifth Edition) Elsevier Academic Press. New York.
- Ahmad, K., Kamaruzman, S., Habibuddin, H., Jugah, K., SyedOmar, S.R. 2008. Cloning and Sequencing of *Candidatus Liberibacter asiaticus* Isolated from Citrus Trees in Malaysia. Int. J. Agric. Biol. 4: 417-421.
- Allen, G. 2015. How Long Can Florida's Citrus Industry Survive?. <https://www.npr.org/sections/thesalt/2015/11/27/457424528/how-long-can-floridas-citrus-industry-survive>. Accessed 20 February, 2019.
- Aragaki, M. and Hine, R.B. 1963. Effect of radiation on sporangial production of *Phytophthora parasitica* on artificial media and detached papaya fruit. Phytopathology 53: 854-856.
- Bove, J.M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, centuryold disease of citrus. J Plant Pathol 88: 7-37.
- Bowyer, J.W. and Calavan, E.C. 1974. Antibiotic sensitivity in vitro of the mycoplasma-like organism associated with citrus stubborn disease. Phytopathology 64: 346-349.
- Brlansky, R.H., Dewdney, M.M., Rogers, M.E., and Chung, K.R. 2009. Huanglongbing (citrus greening). Florida Citrus Pest Management Guide. Publication number PP-225. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville. Online: <http://edis.ifas.ufl.edu/CG086>.
- Brown, T. 2010. Special Report: A day without genetically altered orange juice. <https://www.reuters.com/article/us-gmo-oranges/special-report-a-day-without-genetically-altered-orange-juice-idUSTRE6B24ZE20101203>. Accessed 20 February, 2019.

- Chiou, C.S. and Jones, A.L., 1995. Molecular analysis of high-level streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 85: 324-328.
- Chopra, I. and Roberts, M., 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* MMBR 65: 232-260 (second page, table of contents).
- Citrus research and education center. 2003. Citrus Greening (Huanglongbing). <https://crec.ifas.ufl.edu/extension/greening/symptoms.shtml>. Accessed 20 February, 2019.
- Coletta-Filho, H.D., Takita, M.A., Targon, M.L.P.N. and Machado, M.A., 2005. Analysis of 16S rDNA sequences from citrus huanglongbing bacteria reveal a different “*Ca. Liberibacter*” strain associated with citrus disease in Sao Paulo. *Plant Dis.* 89: 848-852.
- Cooke, D.E.L. and Duncan, J.M. 1997. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on ITS1 and ITS2 sequences of the ribosomal RNA gene repeat. *Mycol Res.* 6: 667–677.
- Cooke, D.E.L., Schena, L. and Cacciola, S.O. 2007. Tools to detect, identity and monitor *Phytophthora* species in natural ecosystem. *J Plant Pathol.* 89: 13–28.
- Coy, M.R., Hoffmann, M., Gibbard, H.N.K., Kuhns, E.H., Pelz-Stelinski, K.S. and Stelinski, L.L. 2014. Nested-quantitative PCR approach with improved sensitivity for the detection of low titer levels of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. *Journal of Microbiological Methods* 102: 15-22.
- Croxton, S. and Stansly, P. 2013. Metalized polyethylene mulch to repel Asian citrus psyllid, slow spread of Huanglongbing and improve growth of new citrus plantings. *Pest Manag Sci* 70: 318–323.
- da Graça, J.V. 1991. Citrus greening disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29: 109-136.
- da Graça, J.V. and Korsten, L. 2004. Citrus huanglongbing: Review, present status and future strategies. Pages 229-245 in: *Diseases of Fruits and Vegetables*, Vol. I. S. A. M. H. Naqvi, ed. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Davis, R.M. 1982. Control of *Phytophthora* root and foot rot of citrus with systemic fungicides metalaxyl and phosethyl aluminum. *Plant Disease* 66: 218-220.
- Drenth A. and Guest D.I. 2004. Principles of *Phytophthora* disease management. In: *Diversity and management of Phytophthora in Southeast Asia*. Drenth A. and Guest D.I. (eds): ACIAR, Canberra, pp. 154-160.
- Floyd, J. and C. Krass. 2006. Citrus Greening Disease. <https://www.apnet.org/meetings/topicalmeetings/NPDRS/Documents/2010/Attachment-19.pdf>. Accessed 20 February, 2019.

- Folimonova, S.Y. and Achor, D.S., 2010. Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. *Phytopathology* 100: 949-958.
- Gale, K. 2013. Disease devastates state citrus industry. <https://www.bizjournals.com/southflorida/blog/2013/07/citrus-industry-were-fighting-for.html>. Accessed 20 February, 2019.
- Garnier and Bové, 1996. Electron micrograph of *Candidatus Liberibacter* sp. in the phloem of infected citrus tree. <http://www.nap.edu/read/12880/chapter/4#47>. Accessed 20 February, 2019.
- Gasparoto, M.C.G., Coletta-Filho, H.D., Bassanezi, R.B., Lopes, S.A., Lourenco, S.A. and Amorim, L. 2012. Influence of temperature on infection and establishment of 'Candidatus *Liberibacter americanus*' and 'Candidatus *Liberibacter asiaticus*' in citrus plants. *Plant Pathology* 61: 658-664.
- Gomez, H. 2010. Huanglongbing (HLB). http://itp.lucidcentral.org/id/citrus/diseases/key/Diseases_of_Citrus/Media/Html/Huanglongbing__HLB_.htm. Accessed 20 February, 2019.
- Gottwald, T.R. 2010. Current epidemiological understanding of citrus Huanglongbing. *Annu. Rev. Phytopathology* 48: 119-139.
- Gottwald, T.R., da Graça, J.V. and Bassanezi, R.B. 2007. Citrus Huanglongbing: The pathogen and its impact. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- Gray, R.A. 1955. Inhibition of root growth by streptomycin and reversal of the inhibition by manganese. *Am. J. Bot.* 42: 327-331.
- Grünwald NJ, Martin FN, Larsen MM, Sullivan CM, Press CM, Coffey MD, Hansen, E.M. and Parke, J.L. 2011. Phytophthora-ID.org: a sequence-based Phytophthora identification tool. *Plant Dis.* 95: 337-342.
- Halbert, S.E. and Manjunath, K.L. 2004. Asian citrus psyllids (*Sternorrhyncha: Psyllidae*) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Fla. Entomol.* 87: 330-353.
- Hall, D., Richardson, M., El-Desouky, A., Halbert, S. 2012. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. *Entomol. Exp. Appl.* 146: 207-223.
- Hocquellet, A., Toorawa, P., Bove, J.M. and Garnier, M. 1999. Detection and identification of the two *Candidatus Liberobacter* species associated with citrus Huanglongbing by PCR amplification of ribosomal protein genes of the β operon. *Mol. Cell. Probes*, 13: 373-379.
- Hoffman, M.T., Doud, M.S., Williams, L., Zhang, M.Q., Ding, F., Stover, E., Hall, D., Zhang, S., Jones, L., Gooch, M., Fleites, L., Dixon, W., Gabriel, D. and Duan Y.P. 2012. Heat treatment

- eliminates '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' from infected citrus trees under controlled conditions. *Phytopathology* 103: 15–22.
- Hoitink, H.A.J. and Fahey, P.C. 1986. Basis for control of soil-borne pathogens with compost. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:93-124.
- Jagoueix, S., Bove, J.M. and Garnier, M. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the subdivision of the Proteobacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 379-386.
- Jagoueix, S., Bove, J.M. and Garnier, M. 1996. PCR detection of the two *Candidatus liberobacter* species associated with greening disease of citrus. *Mol. Cell. Probes* 10: 43-50.
- Jagoueix, S., Bove, J.M., Garnier, M., 1997. Comparison of the 16S/23S ribosomal intergenic regions of "*Candidatus Liberobacter asiaticum*" and "*Candidatus Liberobacter africanum*," the two species associated with citrus huanglongbing (greening) disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 224-227.
- Kadooka, J.Y. and Ko, W.H. 1973. Production of chlamydospores by *Phytophthora palmivora* in culture media. *Phytopathology* 63: 559-562.
- Ke, C. and Wang, Z. 1991. A study on the use of antibiotics to control citrus huanglungbing. In: *Proceeding 6th Int. Asia Pac. Workshop Integr. Citrus Health Manag.*, pp. 40-48.
- Kean, S., Soyong, K. and To-anun, C. 2010. Application of biological fungicides to control citrus root rot in Cambodia. *International Journal of Agricultural Technology* 6(2): 219-230.
- Kim, J.-S., Sagaram, U.S., Burns, J.K., Li, J.-L. and Wang, N. 2009. Response of sweet orange (*Citrus sinensis*) to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection: microscopy and microarray analyses. *Phytopathology* 99: 50-57.
- Ko, W.H., Chase, L.L. and Kunimoto, R.K. 1973. A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. *Phytopathology* 63: 1206-1207.
- Levy, S.B. 1998. The challenge of antibiotic resistance. *Sci. Am.* 278: 46-53.
- Li, W.B., Hartung, J.S. and Levy, L. 2006. Quantitative real-time PCR for detection and identification of '*Candidatus Liberibacter*' species associated with citrus Huanglongbing. *J. Microbiol. Methods* 66:104-115.
- Li, W.B., Hartung, J.S. and Levy, L. 2008. Optimized quantification of unculturable '*Candidatus Liberibacter* spp.' in host plants using real-time PCR. *Plant Dis.* 92:854-861.

- Lopes, S.A., Frare, G.F., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J., Barbosa, J.C., 2007. Ineffectiveness of pruning to control citrus huanglongbing caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. Eur. J. Plant Pathol. 119: 463-468.
- Martinez, A., Nora, D., and Armedilla, A. 1970. Suppression of symptoms of citrus greening disease in the Philippines by treatment with tetracycline antibiotics. Plant Dis Rep 54: 1007-1009.
- Matheron, M. and Matejka, J. 2016. Comparative Control of Phytophthora Root Rot of Citrus with Sodium Tetrathiocarbonate, Metalaxyl, and Dosetyl-Al. College of Agriculture, University of Arizona (Tucson, AZ) <http://hdl.handle.net/10150/215725>
- McManus, P.S., Stockwell, V.O., Sundin, G.W. and Jones, A.L., 2002. Antibiotic use in plant agriculture. Annu. Rev. Phytopathology 40: 443-465.
- Menge J.A. and Nemec S. 1997. Citrus: Phytophthora root rot. In: Soilborne diseases of tropical crops. Hillocks R.J. and Waller J.M (eds): CAB International, Wallingford, UK, pp. 186-226.
- Menge J.A. and Ploetz R.C. 2003. Diseases of avocado. In: *Diseases of tropical fruit crops*. Ploetz R.C. (ed.): CAB International, Wallingford, UK, pp. 35-71.
- Menyonga, J.M. and Tsao, P.H. 1966. Production of zoospore suspensions of *Phytophthora parasitica*. Phytopathology 56: 359-360.
- Mukerji, K.G. and Garg, K.L. 1988. Biological control of Plant Disease, Volume 3. CRC Press, Inc., Boca Raton. Florida.
- Nariani, T.K., Raychaud, S.P. and Viswanat, S.M. 1971. Response of greening pathogen of citrus to certain tetracycline antibiotic. Curr. Sci. 40: 552.
- Pande, S., Sharma, M., Mangla, U.N., Ghosh, R. and Sundaresan, G. 2011. Phytophthora blight of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]: an updating review of biology, pathogenicity and disease management. Crop Prot. 30: 951-957.
- Pechprom, S. and Soyong, K. 1997. Integrated biological control of Durian stem and root rot caused by *Phytophthora palmivora*. Proceedings of the First International Symposium on Biopesticides: 228-233.
- Pegg K.G, Coates L.M., Korsten L. and Harding R.M. 2002. Foliar, fruit and soilborne diseases. In: The Avocado: Botany, Production and Uses. Wiley A.W., Schaffer B. and Wolstenholme B.N. (eds): CAB International, Wallingford, UK, pp. 299-338.

- Puttamuk, T., Zhang, S., Duan, Y., Jantasorn, A. and Thaveechai, N. 2014. Effect of chemical treatments on 'Candidatus Liberibacter asiaticus' infected pomelo (*Citrus maxima*). *Crop Protection* 65: 114-121.
- Rogers, S.O. and Bendich, A.J. 1988. Extraction of DNA from plant tissue, pp. 1-10. In: *Plant Molecular Biology Manual A6*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Roistacher, C.N. 1996. The economics of living with citrus diseases: Huanglongbing (greening) in Thailand. Pages 279-285 in: *Proc. 13th Conf. Int. Organ. Citrus Virol.* P. Moreno, J.V. da Graça, and R.K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside, CA.
- Schwarz, R.E. and van Vuuren, S.P. 1970. Decreases in fruit greening of sweet orange by trunk injections with tetracycline. *Plant Dis. Rep.* 55: 747-750.
- Shanmugam, V., Ajit, N.S., RajaRam, Dhyani, D., 2009. Screening carnation and gladiolus cultivars for vascular wilt resistance. *Indian Phytopathology* 62 (1): 117–118.
- Sharma, M., Ghosh, R., Tarafdar, A. and Telangre, R. 2015. An efficient method for zoospore production, infection and real-time quantification of *Phytophthora cajani* causing Phytophthora blight disease in pigeonpea under elevated atmospheric CO₂. *BMC Plant Biology* DOI 10.1186/s12870-015-0470-0
- Shen, W., Crevallos-Crevallos, J., Nunes da Rocha, U., Arevalo, H., Stansly, P., Roberts, P.H.C, and van Bruggen, A. 2013. Relation Between Plant Nutrition, Hormones, Insecticide, Applications, Bacterial Endophytes, and Candidatus Liberibacter ct Values in Citrus Trees Infected with Huanglongbing. *Eur J Plant Pathol* 137: 727–742.
- Shokrollah, H., Abdullah, T.L., Sijam, K. and Abdullah, S.N.A. 2010. Ultrastructures of *Candidatus Liberibacter asiaticus* and its damage in Huanglongbing (HLB) infected citrus. *African Journal of Biotechnology* 9(36): 5897-5901.
- Shokrollah, H., Abdullah, T.L., Sijam, K., Abdullah, S.N.A., 2011. Potential use of selected citrus rootstocks and interstocks against HLB disease in Malaysia. *Crop Prot.* 30: 521-525.
- Soytong, K. 1992. Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*. *Journal of Plant protection in the tropics* 9: 17-24.
- Soytong, K. and Quimio, T.H. 1989. Antagonism of *Chaetomium globosum* to the rice blast pathogen, *Pyricularia oryzae*. *Kasetsart J. (Nat.Sci.)* 23:198-203.
- Soytong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapan, V., and Isobe, M. 2001. Application of *Chaetomium* species as new broad spectrum biological fungicide for plant diseases control. *Fungal Diversity* 7: 1-15.

- Soytong, K., Usuwan, P., Kanokmedhakul, S., Knokmedhakul, K., Kukongviriyapan, V. and M. Isobe. 1999. Integrated biological control of *Phytophthora* rot of sweet orange using mycofungicides in Thailand. Proc. of the 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics. 15-18 March 1999. Malaysia. 329-331 pp.
- Sruamsiri, P., Akarapisan, A. and Sringarm, K., 2013. Fang orange, lessons learn from the past, a path to the better future (End). Home Agric. Mag. 37: 142-145.
- Stamps, D.J., Waterhouse, G.M., Newhook, F.J. and Hall, G.S. 1990. Revised Tabular. Key to the Species of *Phytophthora*. C.A.B. International Mycological Institute. Mycological paper No 162; 28 p.
- Stansly, P., Arevalo, H., Qureshi, J., Jones, M., Hendricks, K., Roberts, P. and Roka, F. 2013. Vector control and foliar nutrition to maintain economic sustainability of bearing citrus in Florida groves affected by huanglongbing. Pest Manag. Sci. 70: 415–426.
- Susan, E.H. and Keremane, L.M. 2004. Asian citrus psyllids (*Sternorrhyncha: Psyllidae*) and greening disease in citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Flav. Entomol. 87: 330-354.
- Sutton, B., Duan, Y.P., Halbert, S., Sun, X.A., Schubert, T., and Dixon, W. 2005. Detection and identification of citrus Huanglongbing (greening) in Florida, USA. 2005. Page 59 in: Proc. Second Int. Citrus Canker Huanglongbing Res. Workshop, Orlando, FL.
- Tedford, E.C., Miller, T.L. and Nielsen, M.T. 1990. A detached-leaf technique for detecting resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in tobacco. Plant Dis. 74: 313–316.
- Teixeira, D.C., Danet, J.L., Eveillard, S., Martins, E.C., de Jesus Junior, W.C., Yamamoto, P.T., Lopes, S.A., Bassanezi, R.B., Ayres, A.J., Saillard, C. and Bove, J.M. 2005. Citrus huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the “*Candidatus*” *Liberibacter* species associated with the disease. Mol. Cell. Probes 19: 173-179.
- Teixeira, D.C., Ayres, A.J., Kitajima, E.W., Danet, L., Jagoueix-Eveillard, S., Saillard, C. and Bove, J.M. 2005. First report of a Huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo state, Brazil and association of a new *Liberibacter* Species, H *Candidatus* *Liberibacter americanus*, with the Disease. Plant Dis. 89: 107.
- Timmer, L.W. 1977. Preventive and curative trunk treatments for control of *Phytophthora* foot rot of citrus Phytopathology 67: 1149-1154.
- Timmer, L.W., Sandler, H. A., Graham, J.H. and Zitko, S.E. 1989. *Phytophthora* feeder root rot of bearing citrus: Fungicide effects on soil populations of *Phytophthora parasitica* and citrus tree productivity. Proc. Fla. State Hort. Soc. 102:5-9.

- Tiwari, S., Mann, R., Rogers, M. and Stelinski, L. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Manag. Sci.* 67: 1258–1268.
- Usuwan, P. and Soyong, K. 1998. Biological control of *Phytophthora* rot of citrus in the field. *Proc. of 24th Congress on Science and Technology of Thailand*. 862-863.
- Van Vuuren, S.P. 1977. The determination of optimal concentration and pH of tetracycline hydrochloride for trunk injection of greening-infected citrus trees. *Phytophylactica* 9: 77-81.
- Waksman, S.A. 1996. Antibiotics today. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 42:623-632.
- Walheim, L. 1996. Citrus – Complete guide to selecting and growing more than 100 varieties for California, Arizona, Texas, The Gulf Coast, Florida. Ironwood Press, Tucson, AZ. 112 pp.
- Walter, D. and Gindrat, D. 1988. Biological control of damping-off of sugarbeet and cotton with *Chaetomium globosum* or a fluorescent *Pseudomonas* sp. *Canadian Journal of Microbiology* 34: 631-637.
- Widmer, T.L., Graham, J.H. and Mitchell, D.J. 1996. The effect of composted municipal waste as a soil amendment on the growth of young citrus trees and *Phytophthora nicotianae*. *Soil Crop Sci. Fla. Proc.* 55:32-36.
- Wikipedia. 2019. Citrus greening disease. https://en.wikipedia.org/wiki/Citrus_greening_disease. Accessed 20 February, 2019.
- Zhang, M.Q., Duan, Y., Zhou, L., Turechek, W.W., Stover E. and Powell, C.A. 2010. Screening molecules for control of citrus huanglongbing using an optimized regeneration system for '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'-infected periwinkle (*Catharanthus roseus*) cuttings. *Phytopathology* 100: 239-245.
- Zhang, M.Q., Guo, Y., Powell, C.A. and Duan, Y. 2014. Evaluation of antibiotics against the bacterium, *Candidatus Liberibacter*, for control of citrus Huanglongbing. *Journal of Citrus Pathology* 1(1): 209.
- Zhang, M.Q., Powell, C.A., Zhou, L.J., He, Z.L., Stover, E. and Duan, Y.P. 2011. Chemical Compounds effective against the citrus Huanglongbing bacterium '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in phytopathology. 101(9): 1097-1103.
- Zhou, L., Powell, C.A., Hoffman, M.T., Li, W., Fan, G., Liu, B., Lin, H. and Duan, Y. 2011. Diversity and plasticity of the intracellular plant pathogen and insect symbiont "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" as revealed by hypervariable prophage genes with intragenic tandem repeats. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 6663-6673.

ภาคผนวก

ผลที่ได้รับจากการดำเนินงาน

วัตถุประสงค์	กิจกรรม	ผลที่ได้รับ
1. ระบุสาเหตุโรคต้นโทรมของส้ม	6 เดือนที่ 1	
	1. สำรวจโรคต้นโทรมของส้ม แยกเชื้อและพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรกับส้ม ในห้องปฏิบัติการ	1.สาเหตุของโรคต้นโทรมในส้มเขียวหวานเกิดจากการทำลายร่วมของเชื้อแบคทีเรีย <i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> และเชื้อรา <i>Phytophthora</i> และ <i>Pythium</i>
	2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยา การทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรากรเน่าโคนเน่าในงานเพาะเชื้อ	2. แยกเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ได้จำนวน 48 ตัวอย่าง และนำมาทำการทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> และ <i>Pythium</i> ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าของส้มข้างต้นพบว่าเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CP3, HT1 และ CP2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด
	6 เดือนที่ 2	
	3. ศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำแนกชนิดด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา	3. ทราบถึงความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าส้ม ที่สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานในระดับนานาชาติได้ (อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล)
2. ควบคุมและรักษาโรคต้นโทรมของส้มในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ	1. ทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต้นโทรม (รากเน่าโคนเน่า และกรีนนิง) ในเรือนปลูกทดลอง และทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือน	1. จากการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและโรคกรีนนิง ร่วมกับการควบคุมโรคในโรงปลูกทดลอง พบว่าการจัดการโดยใช้ไบโอเทคนิคและการจัดการแบบเกษตรกร ทำให้การเจริญเติบโตของต้นส้มไม่แตกต่างกัน
	6 เดือนที่ 3	

	2. ทดสอบการควบคุมโรคต้นโทรมใน เรือนปลูกทดลอง และในแปลงปลูก ส้มของเกษตรกร	2. การจัดการโรคต้นโทรมของส้มด้วยไบ โอเทคนิค สามารถทำให้ส้มมีการเจริญ เติบโตได้เท่ากับการจัดการของ เกษตรกรที่ใช้ปุ๋ยเคมีเป็นหลัก และเมื่อ คำนวณต้นทุนการผลิตพบว่าเกษตรกร ต้องลงทุนสูงกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในระยะ เริ่มต้นของการรักษา ซึ่งยังไม่ตอบ โจทย์ความต้องการของเกษตรกรได้ เท่าที่ควร
	6 เดือนที่ 4	
	3. ติดตามการทดสอบการควบคุมโรค ต้นโทรมในเรือนปลูกทดลอง และใน แปลงปลูกส้มของเกษตรกร	3. จากผลการทดสอบการควบคุมโรคใน แปลงทดลอง จำเป็นต้องใช้วิธีการไบ โอเทคนิคตั้งแต่เริ่มปลูกส้ม ร่วมกับการ ปรับสภาพดินให้มีการระบายน้ำดี โดย ผสมปุ๋ยอินทรีย์และทรายลงในหลุม ปลูก และพัฒนาการใช้เชื้อรา <i>Chaetomium</i> ในรูป เชื้อ ส ด ที่ เกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณใช้เองได้
3.จัดทำศูนย์การ เรียนรู้การฟื้นฟู โรคต้นโทรมของ ส้ม	1. เผยแพร่ความรู้ในการควบคุมโรคต้น โทรมของส้มโดยจัดสัมมนา อบรมและ ดูงานในแปลงสาธิต	1. คณะผู้วิจัยจึงลงความเห็นยังไม่ทำการ จัดอบรมเผยแพร่องค์ความรู้นี้ตาม แผนงานที่ได้ตั้งไว้เดิม โดยได้ปรับ แผนงานจากการรักษาต้นส้มที่แสดง อาการต้นโทรมซึ่งต้องใช้ทรัพยากรใน การฟื้นฟูสภาพต้นส้มปริมาณมาก ส่งผลทำให้ต้นทุนสูง เป็นการจัดทำ แปลงสาธิตในพื้นที่สวนปทุมวัน โดย เกษตรกรให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กรรมวิธีคือการใช้ไบโอเทคนิคร่วมกับ การปรับปรุงดิน และการจัดการโดยใช้ ปุ๋ยเคมีตั้งแต่เริ่มการปลูก ผลจากการ สำรวจพบว่าอาการเจริญเติบโตของต้น

		ส้มใน 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างกัน
--	--	-------------------------------

กิจกรรมเผยแพร่องค์ความรู้ร่วมกับ สกว.



รูปที่ 48. กิจกรรมเผยแพร่งานวิจัยของโครงการ

การนำเสนอผลงานวิจัยของโครงการในระดับนานาชาติ

Chimchid, S., Intaparn, P., Prommate, A., Srirueangdej, K., Wongwan, T., McGoven, R.J., Soyong, K., To-anun, C. and Cheewangkoon, R. 2017. Isolation and Selection of *Chaetomium* spp. for Controlling Citrus Root Rot Disease, pp. 12-13. In The sixth International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development 2017. 24-26 November 2017, Association of Agricultural Technology in Southeast Asia. Baguio, Philippines. (Oral Presentation)

Noireung, P., Wangmanow, N., Wongwan, T., McGoven, R.J., Soyong, K., Cheewangkoon, R. and To-anun, C. 2017. Controlling *Phytophthora* Causing Root Rot of Citrus by Using Crude Extracts of *Chaetomium cupreum*, pp. 14-15. In The sixth International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development 2017. 24-26 November 2017, Association of Agricultural Technology in Southeast Asia. Baguio, Philippines. (Oral Presentation)

Noireung, P., Prommate, A., Wongwan, T., Chimchid, S., Cheewangkoon, R., McGoven, R.J., Soyong, K. and To-anun, C. 2017. Psuedofungi Associated with Citrus Decline Disease in Chiang Mai, Thailand, 113-114. In The sixth International Conference on Integration

of Science and Technology for Sustainable Development 2017. 24-26 November 2017, Association of Agricultural Technology in Southeast Asia. Baguio, Philippines. (Poster Presentation)