

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	SRI6020204
ชื่อโครงการ:	โครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืนจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี
ชื่อนักวิจัย:	รัชดาวรรณ ชีวังกู ¹ (หัวหน้าโครงการ) ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ¹ , เกษม สร้อยทอง ² , ฐิติมา วงษ์วาน ¹ ¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ² คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ชื่อนักศึกษาช่วยวิจัย:	อำพล พรหมเมศร์, ปริญญ์ น้อยเรือง
Email address:	ratchadawan.c@cmu.ac.th, chaiwat.toanun@gmail.com aikasem@gmail.com, thitima.wongwan@cmu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ:	วันที่ 1 พฤษภาคม 2560 – 30 เมษายน 2562
คำหลัก:	การบริหารจัดการอย่างแม่นยำ, ไฟทอปโทรา, ทุเรียน

จากการสำรวจสวนทุเรียนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ และเก็บตัวอย่างดิน ราก เปลือกไม้เพื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุของโรคจาก 5 สวน ในพื้นที่ อำเภอท่าใหม่ อำเภอเขาคิชฌกูฏ จ. จันทบุรี อำเภอพบพระ จ.ตาก อำเภอลับแล จ.อุตรดิตถ์ และอำเภอ เวียงเชียงรุ้ง จ. เชียงราย พบว่าต้นทุเรียนในทุกสวนแสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่า แต่แตกต่างกันตามความรุนแรงของโรค โดยพบตั้งแต่ต้นที่มีลักษณะปกติ แต่เมื่อขุดดูบริเวณราก จะพบว่าขนราก (root hair) ถูกทำลาย รากหลุดปลอก บางต้น มีอาการตายจากยอด (die back) และ ในต้นที่อาการรุนแรง จะมีทั้ง รากเน่า ตายจากยอด และโคนเน่า มีแผลสีดำ ที่มีน้ำไหลออกมา และเมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุ สามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* จำนวน 28 ไอโซเลท จากตัวอย่างที่เก็บมาทั้งหมด และเมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าบนใบทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าสร้างความรุนแรงของโรคที่ระดับรุนแรงมาก จำนวน 12 ไอโซเลท ระดับ ปานกลาง จำนวน 4 ไอโซเลท ระดับต่ำ จำนวน 2 ไอโซเลท และไม่ทำให้เกิดโรค จำนวน 10 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่มีระดับความรุนแรงในระดับรุนแรงมาก จำนวน 10 ไอโซเลท เลท มาทำวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเบื้องต้นพบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum*, *P. vexans*, *P. delicense*, *Phytophthora cinnamomi* และ *Ph. palmivora*

จากการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. โดยทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง พบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งหมดจำนวน 19 ตัวอย่าง ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ โดยการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบทุเรียน (detached leave technique) โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกันบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. 3 ไอโซเลท ได้แก่ CMU08, CMU19 และ CMU13 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้เท่ากับ 50.55, 50.00 และ 48.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 2.5 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคนอาหาร PDA (ชุดควบคุม) ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9 เซนติเมตร *Chaetomium* spp. นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ CMU08 และ CMU19 สามารถสร้างสารที่ทำให้เกิด clear zone ได้ เมื่อนำบริเวณที่เชื้อเจริญเข้าหากัน (interface) ทำสไลด์ส่องดูใน

กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติกับเชื้อโสมที่ CMU13 เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติ

จากการทดสอบสารออกฤทธิ์ชีวภาพ จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี และยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. พบว่าสารสกัด *Chaetomium* spp. (Hexane) พบว่าที่ความเข้มข้น 10, 50, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี มีค่าเท่ากับ 32 และ 76.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากการทดสอบการใช้ไบโอเทคนิค (Biotechnology) ในการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในสภาพแปลงปลูกทดลองในสวนของคุณสมชาย อำเภอกำแพง จังหวัดจันทบุรี ประกอบด้วยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ (การทดลองครั้งนี้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม.) ได้ทรงพุ่มอย่างต่อเนื่อง จากนั้นทำการใช้ผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมียม นิวทริคโรป และ นาโนโคโตซาน และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี พบว่าการใช้ไบโอเทคนิคสามารถช่วยรักษาอาการรากเน่าโคนเน่าของต้นที่เรียนที่เป็นโรคได้ดีกว่าการใช้สารเคมี โดยพบว่ามีบางต้นที่เห็นการพัฒนาของผลผลิตลง คือบริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของผล จากนั้นทำการเปิดเนื้อไม้ โดยเปลือกไม้แตก และใช้ชีวภัณฑ์เชื้อใช้คีโตเมียม ผสมกับนาโนลิซิเตอร์ เล็กน้อย ทาบริเวณที่เป็นแผลฉ่ำน้ำ เมื่อสารชีวภัณฑ์แห้งแล้ว จะช่วยในการดูดซับน้ำ และรักษาอาการเน่าของโคนต้น ทำให้เนื้อไม้บริเวณลำต้นแห้ง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตามเดิม ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบกับการปลูกกล้าทุเรียนในพื้นที่ อำเภอมะนัง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์และผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมียม รองกันหลุมก่อนปลูก และเติมอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์นิวทริคโรป และ นาโนโคโตซาน พบว่าการตายของต้นกล้าทุเรียนเพียงร้อยละ 10 แต่พบการตายของต้นกล้าทุเรียนที่จัดการโดยใช้สารเคมีเป็นหลักร้อยละ 100 แสดงให้เห็นว่าการทดลองในกรรมวิธี biotechnology สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดี โดยเกษตรกรทำการปลูกต้นกล้าใหม่แทนต้นเดิมที่ตาย และทำการรองกันหลุมด้วยปุ๋ยอินทรีย์และเชื้อราคีโตเมียมแบบเชื้อสด ที่เพราะเลี้ยงหัวเชื้อจากโครงการ

การทดสอบการควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนอายุ 8 เดือน ปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุโรคโสมที่ P-05 ในเรือนทดลอง ทำการป้องกันกำจัดโรคในต้นกล้าทุเรียนที่ทดสอบในกระถางโดยใช้สารชีวภัณฑ์ที่มีจำหน่ายเป็นการค้าชื่อ Ketomium® และใช้เชื้อสด *Chaetomium* sp. CMU-13 (unknown species) โรยรอบโคนต้นในกระถาง หลังจากการทดลองรักษาเป็นเวลา 2 เดือน กรรมวิธีที่ใช้คีโตเมียมโสมที่ CMU-13 มีการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นกล้าที่สมบูรณ์มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ Ketomium® ในขณะที่กรรมวิธีชุดควบคุมต้นกล้าทุเรียนแสดงอาการติดเชื้อรุนแรงและตายในที่สุด

Abstract

Phytophthora disease on Durian in five provinces (Tha Mai District and Khao Khitchakut District in Chanthaburi Province, Phop Phra District in Tak Province, Laplae District in Uttaradit Province, Wiang Chiang Rung District in Chiang Rai Province and Mae Ai district in Chiang Mai province.) was surveyed. Diseased plants showed a variety of symptoms starting from damaged root hair to die back. Under the survey, soil, root and bark specimens were collected for the isolation of the pathogens. 28 isolates of *Phytophthora* and *Pythium* were isolated from specimens. The pathogenicity of the isolates were tested and 12 isolates of them showed highly virulence, 4 isolates showed moderately virulence, 2 isolates showed low virulence and 10 isolates were non-pathogenic strains. Using phylogeny 10 pathogenic isolates were identified to be closely related to *Pythium cucurbitacearum*, *P. vexans*, *P. delicense*, *Phytophthora cinnamomi* and *Ph. palmivora*.

Chaetomium spp. were collected and isolate for antagonistic potential study using dual culture technique. Amongst, 19 isolates were antagonist to those highly virulence isolates above. Three isolates, CMU08, CMU19 and CMU13 showed highest potential in inhibiting mycelial growth of *Phytophthora* spp., which were 50.55%, 50.00% and 48.89% respectively. Cleared zones were found with CMU08 and CMU19 dual culture experiments, possibly due to the production of secondary metabolite which can inhibit mycelial growth of *Phytophthora* spp. CMU13 showed inhibiting mechanism by penetration and invading the *Phytophthora* spp. mycelia, and collapsing the colony eventually.

Bioactive compounds produced by *Chaetomium* spp. were studied by extracting to the hexane, ethyl acetate and methanol. *Chaetomium* crude extract on hexane showed highest potential in inhibiting mycelial growth and spores production of *Phytophthora* spp. at 500 and 1,000 mg/L. concentrations, the percentages of inhibition were 32 and 76.25 percentage respectively.

On testing the treatment for root rot of durian in experimental field condition in Somchai orchard at tha Mai District, Chanthaburi Province found that some trees showed the development of wound caused the affected area dark crust similar to circles of water drop out of the cracks in the wound. Then open the wound and treating with biological products such as Ketomium powder with nano-elicitor with Bioinsect. When the biomass was dry, It helped to absorb water to dry and turn to brown.

Durian cultivation in Mae Ai District, Chiang Mai Province, was able to protect using biotechnique process, where the chemical controle was not taken place. Farmers were advised to apply organic fertilizers and live ketogenic fungi to the bottom of the planting hole at the re-plantation process and only 10% of the durian seedlings were died. In whole process, the chemical control of the pathogen was avoided

Testing on controlling the root rot of 8 months old Durian seedlings inoculated with isolate P-05 in the experiment house was tested with bio fungicide with the trade name Ketomium® and using the fresh microbial Chaetomium sp. CMU-13 (unknown species) strew around the base of the pot. After 2 months of treatment, growth and development of seedlings treated with isolate CMU-13 is higher than the seedlings treated with Ketomium®. While the control developed the disease symptoms in seedling. The severe infection eventually lead to the death of the seedlings.