



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ
และยั่งยืนจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี

Precision and Sustainable Management of Phytophthora
Disease of Durian

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชดาวรรณ ชีวังกูร และคณะ
ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
สิงหาคม 2562

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การจัดการโรคไฟทอปทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และ
ยั่งยืนจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี

Precision and Sustainable Management of Phytophthora Disease of Durian

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชดาวรรณ ชีวังกูร	ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ศาสตราจารย์ ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์	ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. รองศาสตราจารย์ ดร. เกษม สร้อยทอง	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
4. นางสาวจิตติมา วงษ์วาน	ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกสว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ฝ่ายเกษตร ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณศาสตราจารย์ ดร.อรรถชัย จินตะเวช ผู้ประสานงานเครือข่ายวิจัยพัฒนาและนำใช้เกษตรแม่นยำ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้ช่วยแก้ไข และให้คำแนะนำในระหว่างการทำวิจัยในครั้งนี้จนมีผลลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเกษตรกรที่ร่วมในโครงการที่ได้ให้ความร่วมมือในการทำวิจัย โดยอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลภาคสนาม รวมทั้งเสียสละเวลาเข้าร่วมประชุม ปรึกษาหารือเพื่อแก้ปัญหาการปลูกทุเรียนในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งข้อมูลที่ได้รับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งแก่โครงการวิจัย อีกทั้งยังให้ความอนุเคราะห์พื้นที่เพาะปลูกส้มเพื่อใช้ในการวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ จะกลับไปเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ปลูกทุเรียนต่อไปในอนาคต

คณะผู้วิจัย

บทสรุปผู้บริหาร

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตทุเรียนเพื่อการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยปี 2556 มีพื้นที่ปลูกทุเรียน 641,248 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 572,454 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 89.27 ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศ ผลผลิตรวม 562,713 ตัน มีการส่งออกทุเรียนสด 372,750 ตัน คิดเป็นร้อยละ 66.24 ของปริมาณผลผลิตทั้งหมด เป็นมูลค่า 7,513 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ในปี 2559-2561 ประเทศไทยขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นและปลูกแทนพืชอื่น เช่น ยางพารา และปลูกแซมในสวนกาแฟ ในปี 2559 ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนสด 403,633 ตัน เป็นมูลค่า 1,751 ล้านบาท และในปี 2560 มีการส่งออกทุเรียนสดเพิ่มขึ้นเป็น 490,489 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,210 ล้านบาท และมีพื้นที่ปลูกทุเรียน 804,858 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 621,686 ไร่ ผลผลิตรวม 649,171 ตัน ในปี 2561 พบว่าทุเรียนมีผลผลิตรวม 726,809 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2560 เท่ากับ 917,780 ตัน (เพิ่มขึ้นร้อยละ 14.45) โดยตั้งแต่ต้นปีจนถึงปลายเดือนมิถุนายน 2561 พบว่า ทุเรียนออกสู่ตลาด 435,368 ตัน หรือร้อยละ 60 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

ในปี 2552-2556 ความต้องการบริโภคทุเรียนสดภายในประเทศเริ่มลดลงจาก 361,973 ตันในปี 2552 เป็น 189,963 ตัน ในปี 2556 หรือลดลงร้อยละ 18.41 ต่อปี ในขณะที่การส่งออกทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์ในปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากปริมาณ 279,571 ตัน มูลค่า 4,952.39 ล้านบาทในปี 2552 เป็นปริมาณ 367,770 ตัน มูลค่า 7,513 ล้านบาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 10.82 และร้อยละ 13.51 ต่อปี ตามลำดับ เนื่องจากความต้องการของตลาดต่างประเทศยังมีอยู่อย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะตลาดสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งเป็นตลาดหลักสำหรับทุเรียนสดของไทยปรับตัวสูงขึ้น ราคาทุเรียนหมอนทองเกรดคณะที่เกษตรกรขายได้ในช่วงปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 21.52 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 39.90 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 15.46 ต่อปี สำหรับราคาทุเรียนพันธุ์ชะนีเกรดคณะเพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 12.89 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 15.15 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.91 ต่อปี ส่วนราคาส่งออกทุเรียนสดในปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 16.06 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 18.32 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.59 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557)

การผลิตทุเรียนในปี 2556 ลดลงเนื่องจากมีปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม อากาศแปรปรวน เกิดความแห้งแล้งซึ่งส่งผลกระทบต่อการติดดอกออกผล รวมทั้งปัญหาโรครากเน่าโคนเน่า (ไฟทอปโทรา) จึงส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตทุเรียนโดยรวม แม้ว่าในปี 2561 ผลผลิตทุเรียนเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากต้นทุเรียนที่ปลูกในปี 2556 เริ่มให้ผลผลิตและสภาพอากาศที่เอื้ออำนวยทำให้ทุเรียนออกดอกและติดผลดีขึ้น ประกอบกับราคาทุเรียนอยู่ในเกณฑ์ดี ทำให้เกษตรกรมีการบำรุงดูแลรักษามากขึ้น ส่งผลให้มีผลผลิตเพิ่มต่อไร่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์มีปริมาณและมูลค่าส่งออก แต่ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตที่เกษตรกรหลายรายคือปัญหาโรครากเน่าโคนเน่า (ไฟทอปโทรา) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่สามารถเข้าทำลายทุเรียนได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทุกส่วนของต้นทุเรียน โดยทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่า ผลเน่า ใบไหม้ กิ่งแห้งตาย ซึ่งจากการลงพื้นที่สำรวจสวนทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี และตราด ของคณะผู้วิจัยในช่วงเดือนกันยายน 2559 และเมื่อเดือนมีนาคม 2560 ที่ผ่านมา พบว่าทุเรียนทุกต้น (100%) ในพื้นที่สวนทุเรียนที่ทำการสำรวจพบว่าเป็นโรครากเน่าโคนเน่า โดยในจำนวนนี้มีมากถึง 60% ที่แสดงอาการต้นโทรมอย่างเด่นชัด และที่แสดงอาการขึ้นรุนแรงและมีโอกาสตายได้นั้นมีจำนวนมากถึง 30% โดยต้นที่แสดงอาการอย่างรุนแรงเหล่านี้ เกษตรกรจะทยอยตัดโค่นทิ้งและทำการปลูกซ่อมใหม่ ซึ่งจากผลดังกล่าวส่งผลกระทบต่อผลผลิตของทุเรียนอย่างรุนแรง ทำให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ควรจะ

เป็น นอกจากนี้ จากการสำรวจในพื้นที่อำเภอแม่เมาะ และอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีการนำกล้าทุเรียนมาปลูกจำนวนมาก แต่ภายหลังจากปลูกไปได้ไม่เกิน 2 ปี กล้าทุเรียนจะทยอยแห้งตาย เมื่อสำรวจบริเวณรากและโคนต้น พบว่ามีอาการรากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* เช่นเดียวกันกับพื้นที่ในจังหวัดจันทบุรี แต่ที่รุนแรงกว่าคือต้นกล้าทุเรียนจะตายทั้งหมดภายในสองปีหลังการปลูก ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยได้ประเมินสาเหตุที่ทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมในจังหวัดจันทบุรีไว้ 3 สาเหตุหลัก คือ 1) เกิดจากการใช้สารเคมีในระบบการปลูกทุเรียนอย่างไม่เหมาะสม และไม่ถูกวิธี ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีดังกล่าว สภาพดินจึงเสื่อมโทรม 2) เมื่อสภาพดินเสื่อมโทรม ทำให้ต้นทุเรียนอ่อนแอและเหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งส่งผลทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคอื่นๆ เช่นโรคใบดิด และโรคราสีชมพูอีกด้วย และ 3) เกิดการระบาดของหนอนดั่งหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียนที่เข้าทำลายต้นทุเรียน ส่งผลให้ทุเรียนยืนต้นตายเป็นจำนวนมาก เกษตรกรจึงต้องโค่นต้นทุเรียนทิ้งในที่สุด

จากการสำรวจพื้นที่สวนในเขตอำเภอแม่เมาะ จังหวัดเชียงใหม่ ของนางศศิฎาภรณ์ น้อยเรือง พบว่ามีการนำกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทองจำนวน 300 ต้นมาทดลองปลูกในสวน พบปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* เช่นเดียวกัน โดยมีต้นกล้าที่เหลือรอดจากการปลูกในปีแรกเพียงจำนวน 30 ต้น หรือประมาณ 10% ของจำนวนที่นำมาปลูกทั้งหมด โดยต้นทุเรียนที่เหลือจำนวนเพียง 30 ต้นนี้ ทางเกษตรกรได้ทดลองนำสารปฏิชีวนะแอมพิซิลินมาทดลองฉีดเข้าลำต้น ซึ่งพบว่าภายหลังการฉีดดังกล่าวช่วยให้ต้นกล้าทุเรียนฟื้นจากอาการรากเน่าโคนเน่าได้เช่นเดียวกับในส้ม นอกจากนี้จากการสอบถามเกษตรกรรายดังกล่าว ยังพบว่ามีผู้นำกล้าทุเรียนมาปลูกในเขตอำเภอฝางจำนวน 1,000 ต้น แต่พบว่ากล้าดังกล่าวจะตายทั้งหมดภายในสองปีแรกของการปลูกเท่านั้น ซึ่งสาเหตุของกล้าทุเรียนในเขตอำเภอแม่เมาะและอำเภอฝาง มีสาเหตุหลักเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* และสภาพอากาศที่ร้อนและแห้งแล้งมากกว่าสภาพอากาศที่จันทบุรีที่ส่งผลทำให้เกิดอาการใบไหม้และร่วงหล่น ทำให้อาการของโรครากเน่าโคนเน่ารุนแรงมากจนกล้าพืชตายได้

โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนนับว่าเป็นโรคที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของทุเรียนเป็นอย่างมาก การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคดังกล่าวมักไม่ได้ผล เนื่องจากมีการใช้อย่างไม่ระมัดระวังจึงก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้าง และเกิดการดื้อต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว ด้วยเหตุนี้ การวางแผนทางการป้องกันดูแลรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนด้วยวิธีด้วยไบโอเทคนิคแบบผสมผสาน ด้วยการปรับปรุงดินโดยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของทุเรียน การใช้วัสดุคลุมดินเพื่อรักษาความชื้นในดิน และช่วยในการแตกรากของทุเรียน การใช้สาร elicitor ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในต้นทุเรียน การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อรา *Ph. palmivora* และการใช้เชื้อราในการควบคุมแมลงในแปลงทุเรียน จึงนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สมควรนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้การแก้ไขปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าเป็นไปอย่างครบวงจรและยั่งยืนต่อไป โดยผู้วิจัยได้วางแผนทางการแก้ปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่เกิดขึ้นกับสวนทุเรียนในจังหวัดจันทบุรีในครั้งนี้ ไว้ 3 ประการ คือ 1) การแก้ปัญหาสภาพความเสื่อมโทรมของดิน โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุ และปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินให้มีค่าเหมาะสม (pH 6.5-7.0) และส่งเสริมให้เกษตรกรเพื่อให้อาศัยสารเคมีอย่างระมัดระวัง และใช้เท่าที่จำเป็น 2) การดูแล ป้องกัน และรักษาโรครากเน่าโคนเน่า ของทุเรียนที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* โดยวางแผนทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของต้นทุเรียน และการบำรุงต้นทุเรียนให้มีระบบรากที่สมบูรณ์แข็งแรง และ 3) การดูแลป้องกัน

และกำจัดหนอนดั่งหนวดยาว โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ทดแทนการใช้สารเคมี และช่วยป้องกันการติดต่อสารเคมีของแมลงดังกล่าว

สำหรับการแก้ปัญหาการปลูกทุเรียนในเขตอำเภอแม่เมาะจังหวัดเชียงใหม่ ที่มีปัญหาเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* และสภาพแวดล้อมที่มีอากาศแห้งแล้ง และมีแสงแดดจัด นอกจากนี้ในช่วงเวลากลางคืนยังมีอากาศที่เย็นจัดมากกว่าแถบจังหวัดจันทบุรี มีผลให้ต้นกล้าทุเรียนเป็นโรคที่รุนแรง และมักจะตายภายในสองปีแรกนั้น ผู้วิจัยได้เพิ่มในส่วนของการปรับสภาพแวดล้อมด้วยการใช้วัสดุพรางแสงให้กับต้นกล้า และการเพิ่มปริมาณการให้น้ำในช่วงฤดูแล้งเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น ร่วมกับการปรับสภาพดินเพื่อเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินให้มากขึ้น การกระตุ้นความต้านทานต่อกล้าทุเรียนโดยการใช้สาร *elicitors* ต่างๆ ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนให้ต้นกล้าเจริญเติบโตจนผ่านระยะเวลา 2 ปีแรก ทำให้ต้นทุเรียนมีความแข็งแรง และเจริญเติบโตจนให้ผลผลิตได้ในที่สุด

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 18 ตัวอย่าง ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ โดยการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบทุเรียน (detached leave technique) โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกันบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. 3 ไอโซเลท ได้แก่ CMU08, CMU18 และ CMU13 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้เท่ากับ 50.55, 50.00 และ 48.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเฉลี่ยเท่ากับ 2.5 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคนบนอาหาร PDA (ชุดควบคุม) ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9 เซนติเมตร *Chaetomium* spp. นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ CMU08 และ CMU18 สามารถสร้างสารที่ทำให้เกิด clear zone ได้ เมื่อนำบริเวณที่เชื้อเจริญเข้าหากัน (interface) ทำสไลด์ส่องดูในกล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ CMU13 เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อ

สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์
ปฏิปักษ์

จากการทดสอบสารออกฤทธิ์ชีวภาพ จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่มีผลต่อการยับยั้งการ
เจริญเติบโตของโคโลนี และยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. พบว่าสารสกัด
Chaetomium spp. (Hexane) พบว่าที่ความเข้มข้น 10, 50, 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถยับยั้งการ
เจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000
มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี มีค่าเท่ากับ 32 และ 76.25 เปอร์เซ็นต์
ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากการทดสอบการใช้ไบโอเทคนิค (Biotechnology) ในการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน
ในสภาพแปลงปลูกทดลองในสวนของคุณสมชาย อำเภอบางบาล จังหวัดจันทบุรี ประกอบด้วยการใช้ปุ๋ย
อินทรีย์ (การทดลองครั้งนี้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม.) ใต้ทรงพุ่มอย่างต่อเนื่อง เพื่อปรับสภาพดินร่วนซุย มี
โครงสร้างโปร่ง อุดมชื้นและธาตุอาหารได้ดี ดินมีสภาพเป็นกลาง เพิ่มจุลินทรีย์พร้อมแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์
ต่างๆ ให้กับดินและสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์อื่นๆ ในธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี
และความแข็งแรง ทนทานต่อการเข้าทำลายของโรคทางดิน จากนั้นทำการใช้ผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมียม
นิวทริคโรป และ นาโนโคโตซาน การกระตุ้นความต้านทานของพืช และลดปริมาณของเชื้อราสาเหตุ และ
เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี พบว่าการใช้ไบโอเทคนิคสามารถช่วยรักษาอาการรากเน่าโคน
เน่าของต้นที่เรียนที่เป็นโรคได้ดีกว่าการใช้สารเคมี ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบกับการปลูกกล้าทุเรียนใน
พื้นที่ อำเภอมะขาม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์และผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมียม ร่องกันหลุมก่อนปลูก
และเติมอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์นิวทริคโรป และ นาโนโคโตซาน พบว่ามีการตายของต้น
กล้าทุเรียนเพียงร้อยละ 10 แต่พบการตายของต้นกล้าทุเรียนที่จัดการโดยใช้สารเคมีเป็นหลักร้อยละ 100
และได้จัดตั้งแปลงทดลองในอำเภอบางบาล จังหวัดจันทบุรี เป็นศูนย์การเรียนรู้การจัดการโรคไฟทอปทอรา
ทุเรียน และส่วนแปลงทดลองอำเภอมะขามได้มีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนเพิ่ม โดยยังคงใช้ไบโอเทคนิคตาม
คำแนะนำของโครงการในการจัดการแปลงปลูกทุเรียนใหม่

โครงการได้จัดการอบรมเรื่อง “การจัดการโรคไฟทอปทอราของทุเรียนอย่างยั่งยืน” แก่เกษตรกร
และผู้สนใจจำนวน 2 ครั้ง ในพื้นที่อำเภอมะขาม และอำเภอบางบาล จังหวัดจันทบุรี โดยให้ความรู้เกษตรกร
เรื่องผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการสารเคมีทางการเกษตรอย่างไม่เหมาะสม หลักการแก้ปัญหาสภาพความ
เสื่อมโทรมของดิน การเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน และแนวทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อ
ราสาเหตุโรค และการกระตุ้นความต้านทานโรคแก่ต้นทุเรียน โดยจัดทำต้นฉบับคู่มือ “การจัดการโรคไฟทอป
ทอราของทุเรียนอย่างแม่นยำและยั่งยืน” เพื่อใช้ในการเผยแพร่องค์ความรู้จากโครงการแก่เกษตรกรต่อไป

Executive Summary

Thailand is the world number one durian exporter. In 2013 the plantation area of durian reached up to 572,454 rai, which was 89.27% from the whole agricultural land area (641,248 rai) of Thailand. The country managed to export 372,750 tons worth 7,513 million baht of fresh durian, which was 66.24% of the total production (562,713 tons) (Agricultural Information Center, Office of Agricultural Economics, 2014). During 2016-2018 the total plantation area was increased while, some plantations were replaced by economical crops, such as rubber and coffee. In 2016, Thailand exported 403,633 tons of fresh durian worth 1,751 million baht. In 2017, the fresh durian exportation increased up to 490,489 tons, worth 2,210 million baht, which represented 621,686 rai from total durian plantation area of 804,858 rai, with total production of 649,171 tons of durian. Further in 2018 the production increased up to 726,809 tons, which is 14.45% (increased by 91,778 tons) increment compare to the production of 2017. In the first half of 2018, 435,368 tons of durian has been produced to the market and it was 60% from the total production from 2018 (Agricultural Information Center Office of Agricultural Economics, 2018).

The demand for domestic consumption of fresh durian from 2009-2013 was decreased from 361,973 tons to 189,963 tons respectively and it is 18.41% decrease per year. Meanwhile the exporting the fresh durian and products from 2009-2013 increased from 279,571 tons (10.82%) worth 4,952.39 million baht to 367,770 tons (13.51%) worth 7,513 million baht respectively.

Due to the continuous demand for the fresh durian, in Republic of China, the Thailand's largest international market for the durian, the selling price of mixed grade Monthong durian between 2009-2013 was increased from 21.52 baht per kilogram to 39.90 baht per kilogram respectively with 15.46% of annual increment. While, the selling price of mixed grade Chanee Durian between 2009-2013, was increased from 12.89 baht per kilogram to 15.15 baht per kilogram respectively with 6.91% annual increment. The exporting price of the fresh durian from 2009-2013 has increased from 16.06 baht per kilogram to 18.32 baht per kilogram, which is 2.59% annual increment (Agricultural Information Center Office of Agricultural Economics, 2014).

Durian harvest in 2013 decreased due to the environmental factors such as fluctuating weather and drought. Which affected the flowering and fruiting of durian along with the root rot (*Phytophthora*) decreased the harvest. Even though, the new plantation of durian in 2013 resulted the increased harvest of durian in 2018 along with favorable weather. Due to exportation standards, the proper maintenance of the cultivation is crucial to reach the quality of the produce. The major issue for the quality of durian is the root rot (*Phytophthora*) caused by *Phytophthora* fungus, which can effect on all part of durian tree

at all growth stages. Root rot (*Phytophthora*) shows the symptoms such as root rot, fruit rot, late blight and dried brunch. Survey of durian orchard in Chantaburi and Trat Province during September 2016 to March 2017 revealed that, 100% of the cultivation was affected by root rot disease, while 60% showed symptoms of shabby explicitly and 30% with severe symptoms or the death. Plant with severe symptoms are gradually cut down and replaced with new plantation, which caused a severe impact on the yield. Furthermore, the survey in Mae Ai and Fang districts in Chiang Mai Province revealed that many of the durian seedlings gradually died after less than two years after the plantation. The diagnosis revealed that the seedlings showed the same symptoms with the root rot caused by *Phytophthora* in Chanthaburi province. More severely, the whole seedling plantation was died within first two years of planting. Hence, research team has evaluated three causatives for durian deterioration in Chanthaburi Province, 1) deterioration caused by improper usage of chemicals in the plantation, which causes the chemical accumulation in soil. 2) Deterioration of the soil condition leads the plats to be more susceptible for *Phytophthora*, which causes root rot disease. 3) Root rot disease leads the plants to be more susceptible for the pathogens, which cause the secondary infections such as leaf disease and pink disease. This leads to the cut down of durian trees at its young stages.

From surveying the Durian orchard Of Mrs. Sasiyaphon Noirueang in Mae Ai district, Chiangmai Province, it was found that 300 Durian seedlings were grown in the orchard. With root rot caused by *Phytophthora*, only 30 seedlings survived in the first year, which was 10% from the initial plantation. It was found that farmers injected ampicillin to the trunk. It was found that, the durian seedlings could be recovered from the root rot as in citrus. Further 1,000 Durian seedlings planted in Fang district was dead within two years after the plantation. The causative was found to be *Phytophthora* disease along with high temperature caused by burning of fallen leaves. Which caused the symptoms of root rot disease to severity and death.

Durian root rot disease is considered as an important disease, which influences the durian harvest. Chemical control of the disease is not an effective control method due to harmful effects, residue problems and developing the resistivity to the chemicals by the fungal pathogens. Hence, the biological control of the disease and developing the soil condition is more important. Maintain the soil moisture helps the breakdown of the roots and usage of elicitor stimulates the immune system in the Durian trees. Further antagonistic microorganisms can be used to control *Ph. Palmivora* and insects in Durian plots. Hence, it is considered as an alternative that should be applied to the root rot problems, integrated in sustainable way. The researchers have laid out three approaches to solve the root rot disease caused by *Phytophthora* fungus occurring in the durian garden in Chanthaburi Province. Which are, 1) adding organic matter and adjust the acidity - alkalinity of the soil

to an appropriate value (pH 6.5-7.0) and promote the farmers to use chemicals carefully and use at the need. 2) Care, prevention and treatment of root rot by selecting antagonistic microorganisms, stimulating immunity in durian trees and nourishing the durian tree to have a strong root system. 3) Care, prevention and removal of long-horned beetle caterpillars by using antagonistic fungi, instead of using chemicals, which helps prevention of chemical resistance of these insects.

Durian cultivation problems in Mae Ai District, Chiang Mai Province are mainly due to the *Phytophthora* fungus and arid climate conditions. Where the intense sunlight at the daytime is higher and cooler weather at night is higher than in Chanthaburi province. Which cause the death of the seedlings at the first two years. Hence, the farmers are advised to use the camouflage materials in seedlings to reduce the effects from the environment. Furthermore, increasing the amount of water supply during the dry season to increase moisture together with increasing organic matter in the soil, stimulation of durian seedlings by using the elicitors in combination with antagonistic microbes are also important. With the proper control of root rot, farmers can yield the maximum harvest from much stronger durian trees.

For the survey of durian cultivations in Tha Mai District, Khao Khitchakut District, Chanthaburi District, Phop Phra District, Tak District, Laplae District, Uttaradit District and Wiang Chiang Rung District, Chiang Rai Province, five gardens were selected from each province, where the soil, root and bark samples were observed. It was revealed that durian trees in all gardens showed the symptoms of root rot. However, the severity of the disease varied accordingly. In certain trees, initial digging did not reveal any disease, but the root hair was observed to be destroyed. Roots with die back were removed. In severe cases, the wounded roots showed the die back from the top. From the diseased samples, 28 isolates of *Phytophthora* and *Pythium* were obtained. Pathogenicity of the isolates were tested *in vitro* using the durian leaves. Which revealed severity of the disease is very high. Twelve isolate found to be medium level, 4 isolate low level and 10 non-pathogenic isolates and highly severe 10 isolates. Preliminary phylogenetic analyses revealed those isolates to be *Pythium cucurbitacearum*, *P. vexans*, *P. delicense*, *Phytophthora. Cinnamomi* and *Ph. palmivora*

From the study of antagonistic control, it was revealed that *Chaetomium* spp. showed the antagonistic activity over all the 18 isolates. Antagonistic effect of *Chaetomium* spp. over severely pathogenic *Phytophthora* spp. was tested *in vitro* using detached leave technique by culturing together on PDA for 7 days. Three isolates of *Chaetomium* spp. CMU08, CMU18 and CMU13, could inhibit the growth of *Phytophthora* spp. The mycelia on PDA are equal to 50.55, 50.00 and 48.89 percent respectively. The diameters of the colonies which were treated with *Chaetomium* spp. were 2.5 cm, while the control reached 9 cm.

Further CMU08 and CMU18 showed the anti-bacterial activity by making clear zones due to the bioactive compounds. It was found that the strain CMU13 developed the antagonistic affect against the pathogen which causes the Durian root rot. Which is a one mechanism of disease control.

Antagonistic activity of *Chaetomium* spp. was shown by the hexane extract with concentration of 10, 50, 100 mg per liter. Which inhibited the production of spores of *Phytophthora* spp. Concentrations of 500 and 1,000 milligrams grams per liter could inhibit the growth of colonies at 32% and 76.25% respectively compared to the control.

Experiments under the field conditions of Khun Somchai Attha Mai, Chanthaburi Province, it was shown that development of wounds was reduced. For an example, the effected area developed the disease symptoms and the open wounds were treated with biocompatible products, using ketium powder Blended with nano-esters With a little O-Insez leaves. The dried biomass absorb the water from the rotten stem and helps healing the wound.

In durian cultivation in Mae Ai District, Chiang Mai Province, the 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.

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 อำเภอน่าใหม่ อำเภอบางขัน จ. จันทบุรี อำเภอบางบาล จ. ตาก อำเภอลำทะเมนชัย จ.อุดรธานี และอำเภอบางบาล 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 เลห 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 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA (ชุดควบคุม) ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 9 เซนติเมตร *Chaetomium* spp. นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ CMU08 และ CMU19 สามารถสร้างสารที่ทำให้เกิด clear zone ได้ เมื่อนำบริเวณที่เชื้อเจริญเข้าหากัน (interface) ทำสไลด์ส่องดูใน

กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติกับไอโซเลทที่ 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 โดยเปลือกไม้ออก 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 ปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุโรคไอโซเลท P-05 ในเรือนทดลอง ทำการป้องกันกำจัดโรคในต้นกล้าทุเรียนที่ทดสอบในกระถางโดยใช้สารชีวภัณฑ์ที่มีจำหน่ายเป็นการค้าชื่อ Ketomium® และใช้เชื้อสด *Chaetomium* sp. CMU-13 (unknown species) โรยรอบโคนต้นในกระถาง หลังจากการทดลองรักษาเป็นเวลา 2 เดือน กรรมวิธีที่ใช้คีโตเมียมไอโซเลท 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.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทสรุปผู้บริหาร	ข
บทคัดย่อ	ญ
สารบัญ	๗
สารบัญภาพ	ฅ
สารบัญตาราง	ท
อักษรย่อในชื่อวิทยาศาสตร์	ธ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาของโครงการ	1
แนวทางในการดำเนินงานของโครงการ	3
วัตถุประสงค์	4
แผนการดำเนินการ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 สำรวจโรครากเน่าของทุเรียน แยกเชื้อ และพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับทุเรียนในห้องปฏิบัติการ	17
บทที่ 4 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในห้องปฏิบัติการ	32
บทที่ 5 การทดสอบการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกทดลอง	80
บทที่ 6 การทดสอบการปลูกทุเรียนในพื้นที่ อ.แม่เมาะ ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ biotechnology	84
บทที่ 7 การทดสอบแนวทางการใช้เชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. เชื้อสดในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในสภาพโรงเรือน	89
บทที่ 8 สรุป	93
ภาคผนวก ประมวลผลการจัดประชุมร่วมกับเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียน	95
คู่มือการจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืน	99
เอกสารอ้างอิง	105

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ต้นทุเรียนในแปลงการทดลอง	3
2	แหล่งเพาะปลูกทุเรียนในประเทศไทย ปี 2555	7
3	ลักษณะอาการเน่าที่โคนต้นทุเรียนสาเหตุเกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i>	8
4	ลักษณะอาการเน่าที่ผลทุเรียนสาเหตุเกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i>	8
5	เชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i>	8
6	อาการโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน	9
7	วิธีการล่อเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน	18
8	วิธีการทดสอบเพื่อประเมินความสามารถการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.	19
9	ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอน้ำใหม่ จังหวัดจันทบุรี (สวนคุณสมชาย)	21
10	ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอน้ำคอก จังหวัดจันทบุรี	21
11	ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอบรบพระ จังหวัดตาก	22
12	ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์	23
13	ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย	23
14	การเก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณรอบโคนต้น	24
15	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แยกเลี้ยงจากตัวอย่างดิน ราก และลำต้นของทุเรียนที่แสดงอาการของโรค เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน	25
16	ระดับความรุนแรงของโรคที่ก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. บนใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง หลังจากการปลูกเชื้อด้วยวิธี detached leaf technique เป็นเวลา 7 วัน	28
17	อาการของโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียนหลังจากการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 3 สัปดาห์	28

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ลักษณะรากต้นกล้วยเรียน หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค เป็นเวลา 3 สัปดาห์	29
19	Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้วิธี Maximum likelihood (ML) ของ Phytophthora-like alignment จาก rDNA sequences ในตำแหน่ง ITS region โดยมี <i>Albugo candida</i> เป็น outgroup	30
20	การวัดผลการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค (P) โดยเชื้อราปฏิปักษ์ (C)	33
21	ไดอะแกรมแสดงวิธี slide culture, (P) เชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> สาเหตุโรครากเน่ากล้วยเรียน, (C) เชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp.	34
22	แผนผังแสดงการสกัดสารอินทรีย์จากเส้นใยของเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ด้วยสารละลาย Hexane EtOAc และ MeOH ตามวิธีของ Kanokmedhakul <i>et al.</i> (2006)	34
23	ไดอะแกรมแสดงการวางตำแหน่งของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (P-05) บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบในความเข้มข้นต่างๆ	35
24	ตัวอย่างลักษณะของเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ที่แยกได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร	36
25	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-01)	38
26	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-02)	39
27	เชื้อรา <i>Chaetomium funicola</i> (CMU-03)	40
28	เชื้อรา <i>Chaetomium indicum</i> (CMU-04)	41
29	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-05)	42
30	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-06)	43
31	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-07)	44
32	เชื้อรา <i>Chaetomium cupreum</i> (CMU-08)	45
33	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-09)	46

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
34	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-10)	47
35	เชื้อรา <i>Chaetomium brasiliense</i> (CMU-11)	48
36	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-12)	49
37	เชื้อรา <i>Chaetomium</i> sp. (CMU-13)	50
38	เชื้อรา <i>Chaetomium brasiliense</i> (CMU-14)	51
39	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-15)	52
40	เชื้อรา <i>Chaetomium brasiliense</i> (CMU-16)	53
41	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-17)	54
42	เชื้อรา <i>Chaetomium globosum</i> (CMU-18)	55
43	เชื้อรา <i>Chaetomium aureum</i> (CMU-19)	56
44	การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน โดยเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> ไอโซเลท CMU-08, CMU-13 และ CMU-19	59
45	การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium cupreum</i> (CMU-08); (C) ที่เป็นปรสิตรต่อเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05); (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน	60
46	การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. (CMU-13); (C) ที่เป็นปรสิตรต่อเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05), (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน	60
47	การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium aureum</i> (CMU-19); (C) ที่เป็นปรสิตรต่อเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05), (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน	61
48	ลักษณะสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium</i> ที่สกัดด้วย hexane, ethyl acetate และ methanol	63

ภาพที่	สารบัญภาพ (ต่อ)	หน้า
49	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) บนอาหารผสมสารสกัด หยาบจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium cupreum</i> ไอโซเลท (CMU-08) ในความ เข้มข้นแตกต่างกัน	66
50	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบของเชื้อรา <i>Chaetomium cupreum</i> ไอโซเลท (CMU-08) ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)	66
51	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (P-05) บนอาหารผสม สารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ไอโซเลท (CMU-13) ใน ความเข้มข้นแตกต่างกัน	69
52	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบของเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ไอโซเลท CMU- 13 ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (P-05)	69
53	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) บนอาหารผสมสารสกัด หยาบจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium aureum</i> ไอโซเลท (CMU-19) ในความ เข้มข้นแตกต่างกัน	72
54	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ ethyl acetate ของเชื้อรา <i>Chaetomium aureum</i> ไอโซเลท (CMU-19) ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, (ก – ข) ลักษณะปลายเส้นใย เชื้อราสาเหตุโรค	72
55	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium cupreum</i> (CMU-08) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด	77
56	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. (CMU-13) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด	77
57	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium aureum</i> (CMU-19) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด	78
58	ทีมผู้วิจัยได้แนะนำวิธีการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดพร้อมทั้งมอบสารชีวภัณฑ์แก่ เกษตรกรและสาธิตการใช้สารชีวภัณฑ์	80
59	ลักษณะอาการของโรครากเน่าทุเรียนแบบต่างๆ ได้แก่อาการรากเน่า ใบเหลือง เฉพาะกิ่ง อาการแห้งตายจากยอด ลำต้นเน่า เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้ วิธีการจัดการด้วยวิธี biotechnology อย่างมีประสิทธิภาพ และแสดงระดับความ ลึกของการอัดฉีดพ่นชีวภัณฑ์ลงในดินรอบบริเวณราก	81
60	การจัดการโรครากเน่าด้วยวิธี biotechnology ในกรณีโรคมีความรุนแรง โดยแสดง อาการต้นโทรมมากกว่าร้อยละ 50 ของต้น แสดงการตัดกิ่งที่แสดงอาการใบเหลือง (วงกลม) การฉีดพ่นและทาชีวภัณฑ์เข้มข้นบนบริเวณลำต้นที่แสดงอาการเน่า (สี่เหลี่ยม)	81

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
61	การฟื้นฟูต้นทุเรียนโดยการทาชีวภัณฑ์บริเวณที่เป็นโรค	82
62	แผนผังการปลูกทุเรียนสวนปทุมมัน สีเขียวคือกรรมวิธี biotechnique (T1) สีแดงคือ กรรมวิธีการจัดการของเกษตรกร (T2)	84
63	ลักษณะการปลูกต้นกล้าทุเรียนในแปลงทดสอบ ในพื้นที่สวนปทุมมัน	85
64	ต้นกล้าทุเรียนที่ตายระหว่างการทดลอง หลังจากการลงปลูกเป็นเวลา 4 เดือน	85
65	ลักษณะอาการเน่าของต้นกล้าทุเรียนในการทดลอง พบอาการเน่าบริเวณโคนต้นระดับดิน หลังจากการลงปลูกเป็นเวลา 6 เดือน	86
66	การกางมุ้งตาข่ายเพื่อเพิ่มร่มเงาแก่ทุเรียน ทำแบบกระโจมปริมาตร สามารถป้องกันแสงได้รอบทาง (แถวบน) และการบังด้านบนและทิศใต้ของต้น (แถวล่าง)	87
67	การเจริญของต้นทุเรียนหลังจากการปลูกในแปลงทดลองเป็นเวลา 12 เดือน	87
68	ไดอะแกรมการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. (CMU-13) ในการควบคุมโรครากและโคนเน่า สาเหตุจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.	89
69	ต้นกล้าทุเรียนหลังจากการปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่า เป็นเวลา 2 เดือน	91
70	ความสมบูรณ์ของรากต้นกล้าทุเรียนหลังจากการปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่า เป็นเวลา 2 เดือน	91
71	ผู้เข้าร่วมฟังบรรยาย โครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำและยั่งยืนจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี ณ สหกรณ์ท่าใหม่ จำกัด จังหวัดจันทบุรี	95
72	ศ.ดร.ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ให้คำแนะนำต่อเกษตรกรในการแก้ปัญหาโรครากเน่าทุเรียน	96
73	เกษตรกรผู้เข้าร่วมฟังบรรยาย ดูเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ที่ขึ้นบนแกลบดิบ	96
74	สำรวจต้นทุเรียนที่เป็นโรค และตรวจดูลักษณะอาการโรคไฟทอปโทราทุเรียน	97
75	สำรวจอาการโรคไฟทอปโทราทุเรียน บริเวณลำต้นของทุเรียน	97
76	คณะที่มวิจัยโครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืนจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พื้นที่สวนทุเรียนที่ทำการสำรวจเพื่อประเมินสถานการณ์ของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน	17
2	เชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างในแหล่งปลูกทุเรียนของจังหวัดตาก อุตรดิตถ์ และจันทบุรี	26
3	ระดับความรุนแรงของโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. แต่ละไอโซเลทจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคนับใบทุเรียน	27
4	เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. ที่แยกได้จากสถานที่ต่างๆ	37
5	ประสิทธิภาพของเส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. ที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> spp. บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน	58
6	ปริมาณสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium</i> ไอโซเลท (CMU-08), 13 และ 19	63
7	ประสิทธิภาพสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium cupreum</i> ไอโซเลท (CMU-08) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.	65
8	ประสิทธิภาพสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium</i> spp. ไอโซเลท (CMU-13) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)	68
9	ประสิทธิภาพสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium aureum</i> ไอโซเลท (CMU-19) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)	71
10	ประสิทธิภาพของสารสำคัญในสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา <i>Chaetomium</i> ไอโซเลท (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการลดขนาดของแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05) บนใบทุเรียน	76
11	ระดับความรุนแรงของโรคของแต่ละกรรมวิธีหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 2 เดือน	90

อักษรย่อในชื่อวิทยาศาสตร์

<i>C.</i>	=	<i>Colletotrichum</i>
<i>Ch.</i>	=	<i>Chaetomium</i>
<i>F.</i>	=	<i>Fusarium</i>
<i>H.</i>	=	<i>Heterobasidium</i>
<i>P.</i>	=	<i>Pythium</i>
<i>Ph.</i>	=	<i>Phytophthora</i>
<i>Py.</i>	=	<i>Pyricularia</i>
<i>T.</i>	=	<i>Trichoderma</i>
<i>V.</i>	=	<i>Verticillium</i>

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาของโครงการ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตทุเรียนเพื่อการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยปี 2556 มีพื้นที่ปลูกทุเรียน 641,248 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 572,454 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 89.27 ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศ ผลผลิตรวม 562,713 ตัน มีการส่งออกทุเรียนสด 372,750 ตัน คิดเป็นร้อยละ 66.24 ของปริมาณผลผลิตทั้งหมด เป็นมูลค่า 7,513 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ในปี 2559-2561 ประเทศไทยขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นและปลูกแทนพืชอื่น เช่น ยางพารา และปลูกแซมในสวนกาแฟ ในปี 2559 ประเทศไทยมีการส่งออกทุเรียนสด 403,633 ตัน เป็นมูลค่า 1,751 ล้านบาท และในปี 2560 มีการส่งออกทุเรียนสดเพิ่มขึ้นเป็น 490,489 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,210 ล้านบาท และมีพื้นที่ปลูกทุเรียน 804,858 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลแล้ว 621,686 ไร่ ผลผลิตรวม 649,171 ตัน ในปี 2561 พบว่าทุเรียนมีผลผลิตรวม 726,809 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2560 เท่ากับ 917,780 ตัน (เพิ่มขึ้นร้อยละ 14.45) โดยตั้งแต่ต้นปีจนถึงปลายเดือนมิถุนายน 2561 พบว่า ทุเรียนออกสู่ตลาด 435,368 ตัน หรือร้อยละ 60 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

ในปี 2552-2556 ความต้องการบริโภคทุเรียนสดภายในประเทศเริ่มลดลงจาก 361,973 ตันในปี 2552 เป็น 189,963 ตัน ในปี 2556 หรือลดลงร้อยละ 18.41 ต่อปี ในขณะที่การส่งออกทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์ในปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากปริมาณ 279,571 ตัน มูลค่า 4,952.39 ล้านบาทในปี 2552 เป็นปริมาณ 367,770 ตัน มูลค่า 7,513 ล้านบาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 10.82 และร้อยละ 13.51 ต่อปี ตามลำดับ เนื่องจากความต้องการของตลาดต่างประเทศยังมีอยู่อย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะตลาดสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งเป็นตลาดหลักสำหรับทุเรียนสดของไทยปรับตัวสูงขึ้น ราคาทุเรียนหอมทองเกรดคณะที่เกษตรกรขายได้ในช่วงปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 21.52 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 39.90 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 15.46 ต่อปี สำหรับราคาทุเรียนพันธุ์ชะนีเกรดคณะเพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 12.89 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 15.15 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.91 ต่อปี ส่วนราคาส่งออกทุเรียนสดในปี 2552-2556 เพิ่มขึ้นจากกิโลกรัมละ 16.06 บาทในปี 2552 เป็นกิโลกรัมละ 18.32 บาทในปี 2556 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.59 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557)

การผลิตทุเรียนในปี 2556 ลดลงเนื่องจากมีปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม อากาศแปรปรวน เกิดความแห้งแล้งซึ่งส่งผลกระทบต่อการติดดอกออกผล รวมทั้งปัญหาโรครากเน่าโคนเน่า (ไฟทอปโทรา) จึงส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตทุเรียนโดยรวม แม้ว่าในปี 2561 ผลผลิตทุเรียนเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากต้นทุเรียนที่ปลูกในปี 2556 เริ่มให้ผลผลิต และสภาพอากาศที่เอื้ออำนวย ทำให้ทุเรียนออกดอกและติดผลดีขึ้น ประกอบกับราคาทุเรียนอยู่ในเกณฑ์ดี ทำให้เกษตรกรมีการบำรุงดูแลรักษามากขึ้นส่งผลให้มีผลผลิตต่อไร่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ทุเรียนสดและผลิตภัณฑ์มีปริมาณและมูลค่าส่งออก แต่ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตที่เกษตรกรหลายรายคือปัญหาโรครากเน่าโคนเน่า (ไฟทอปโทรา) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่สามารถเข้าทำลายทุเรียนได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทุกส่วนของต้นทุเรียน โดยทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่า ผลเน่า ใบไหม้ กิ่งแห้งตาย ซึ่งจากการลงพื้นที่สำรวจสวนทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี และตราด ของคณะผู้วิจัยในช่วงเดือนกันยายน 2559 และเมื่อเดือนมีนาคม 2560 ที่ผ่านมา พบว่าทุเรียนทุกต้น (100%) ในพื้นที่สวนทุเรียนที่ทำการสำรวจพบว่าเป็นโรครากเน่าโคนเน่า โดยในจำนวนนี้มีมากถึง 60% ที่

แสดงอาการต้นโทรมอย่างเด่นชัด และที่แสดงอาการขึ้นรุนแรงและมีโอกาสตายได้นั้นมีจำนวนมากถึง 30% โดยต้นที่แสดงอาการอย่างรุนแรงเหล่านี้ เกษตรกรจะทยอยตัดโค่นทิ้งและทำการปลูกซ่อมใหม่ ซึ่งจากผลดังกล่าวส่งผลกระทบต่อผลผลิตของทุเรียนอย่างรุนแรง ทำให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ควรจะเป็น นอกจากนี้ จากการสำรวจในพื้นที่อำเภอแม่เมาะ และอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีการนำกล้าทุเรียนมาปลูกจำนวนมาก แต่ภายหลังจากปลูกไปได้ไม่เกิน 2 ปี กล้าทุเรียนจะทยอยแห้งตาย เมื่อสำรวจบริเวณรากและโคนต้น พบว่ามีอาการรากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* เช่นเดียวกันกับพื้นที่ในจังหวัดจันทบุรี แต่ที่รุนแรงกว่าคือต้นกล้าทุเรียนจะตายทั้งหมดภายในสองปีหลังการปลูก ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยได้ประเมินสาเหตุที่ทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมในจังหวัดจันทบุรีไว้ 3 สาเหตุหลัก คือ

- 1) เกิดจากการใช้สารเคมีในระบบการปลูกทุเรียนอย่างไม่เหมาะสม และไม่ถูกวิธี ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีดังกล่าว สภาพดินจึงเสื่อมโทรม
- 2) เมื่อสภาพดินเสื่อมโทรม ทำให้ต้นทุเรียนอ่อนแอและเหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งส่งผลทำให้ต้นทุเรียนทรุดโทรมและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคอื่นๆ เช่นโรคใบติด และโรคราสีชมพูอีกด้วย
- 3) เกิดการระบาดของหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียนที่เข้าทำลายต้นทุเรียน ส่งผลให้ทุเรียนยืนต้นตายเป็นจำนวนมาก เกษตรกรจึงต้องโค่นต้นทุเรียนทิ้งในที่สุด

สำหรับการสำรวจพื้นที่สวนในเขตอำเภอแม่เมาะ จังหวัดเชียงใหม่ ของนางศศิญาภรณ์ น้อยเรือง พบว่ามีการนำกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทองจำนวน 300 ต้นมาทดลองปลูกในสวน พบปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 1ก) โดยมีต้นทุเรียนเหลือรอดจากการปลูกในปีแรกเพียงจำนวน 30 ต้น หรือประมาณ 10% ของจำนวนที่นำมาปลูกทั้งหมด โดยต้นทุเรียนที่เหลือจำนวนเพียง 30 ต้นนี้ ทางเกษตรกรได้ทดลองนำสารปฏิชีวนะแอมพิซิลินมาทดลองฉีดเข้าลำต้น ซึ่งพบว่าภายหลังการฉีดดังกล่าวช่วยให้ต้นกล้าทุเรียนพ้นจากอาการรากเน่าโคนเน่าได้เช่นเดียวกับในส้ม (ภาพที่ 1ข) นอกจากนี้จากการสอบถามเกษตรกรรายดังกล่าว ยังพบว่ามีผู้นำกล้าทุเรียนมาปลูกในเขตอำเภอฝางจำนวน 1,000 ต้น แต่พบว่ากล้าดังกล่าวจะตายทั้งหมดภายในสองปีแรกของการปลูกเท่านั้น ซึ่งสาเหตุของกล้าทุเรียน ในเขตอำเภอแม่เมาะ และอำเภอฝาง มีสาเหตุหลักเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* และสภาพอากาศที่ร้อนและแห้งแล้งมากกว่าสภาพอากาศที่จันทบุรีที่ส่งผลทำให้เกิดอาการใบไหม้และร่วงหล่น ทำให้อาการของโรครากเน่าโคนเน่ารุนแรงมากจนกล้าพืชตายได้

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนนับว่าเป็นโรคที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของทุเรียนเป็นอย่างยิ่ง การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคดังกล่าวมักไม่ได้ผล เนื่องจากมีการใช้อย่างไม่ระมัดระวังจึงก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้าง และเกิดการดื้อต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว ด้วยเหตุนี้ การวางแผนทางการป้องกันดูแลรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนด้วยวิธีด้วยไบโอเทคนิคแบบผสมผสาน ด้วยการปรับปรุงดินโดยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของทุเรียน การใช้วัสดุคลุมดินเพื่อรักษาความชื้นในดิน และช่วยในการแตกรากของทุเรียน การใช้สาร elicitor ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในต้นทุเรียน การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* และการใช้เชื้อราในการควบคุมแมลงในแปลงทุเรียน จึงนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สมควรนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดการแก้ไขปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าเป็นไปอย่างครบวงจรและยั่งยืนต่อไป



ภาพที่ 1 ต้นทุเรียนในแปลงการทดลอง

- (ก) ต้นทุเรียนที่เหลือรอดจากโรครากเน่าโคนเน่าเพียง 30 ต้น จากการปลูกในปีแรกจำนวน 300 ต้น
 (ข) ภาพรอยแผลที่เกิดจากการที่เกษตรกรทดลองใช้สารปฏิชีวนะ Ampicillin ฉีดเข้าสู่ลำต้นทุเรียน

2. แนวทางในการดำเนินงานของโครงการ

แนวทางแก้ปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่เกิดขึ้นกับสวนทุเรียนในจังหวัดจันทบุรีในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้วางแนวทางแก้ปัญหาไว้ 3 ประการ ดังนี้คือ

- 1) การแก้ปัญหาสภาพความเสื่อมโทรมของดิน โดยการเพิ่มอินทรีย์วัตถุ และปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินให้มีค่าเหมาะสม (pH 6.5-7.0) และส่งเสริมให้ความรู้แก่เกษตรกรเพื่อให้ใช้สารเคมีอย่างระมัดระวัง และใช้เท่าที่จำเป็น
- 2) การดูแล ป้องกัน และรักษาโรครากเน่าโคนเน่า ของทุเรียนที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* โดยวางแนวทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค การกระตุ้นภูมิต้านทานในต้นทุเรียน และการบำรุงต้นทุเรียนให้มีระบบรากที่สมบูรณ์แข็งแรง
- 3) การดูแลป้องกันและกำจัดหนอนด้วงหนวดยาว โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ทดแทนการใช้สารเคมี และช่วยป้องกันการติดต่อสารเคมีของแมลงดังกล่าว

สำหรับการแก้ปัญหาการปลูกทุเรียนในเขตอำเภอแม่สายจังหวัดเชียงใหม่ ที่มีปัญหาเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* และสภาพแวดล้อมที่มีอากาศแห้งแล้ง และมีแสงแดดจัด นอกจากนี้ในช่วงเวลากลางคืนยังมีอากาศที่เย็นจัดมากกว่าแถบจังหวัดจันทบุรี มีผลให้ต้นกล้าทุเรียนเป็นโรคที่รุนแรง และมักจะตายภายในสองปีแรกนั้น ผู้วิจัยได้เพิ่มในส่วนของการปรับสภาพแวดล้อมด้วยการใช้วัสดุพรางแสงให้กับต้นกล้า และการเพิ่มปริมาณการให้น้ำในช่วงฤดูแล้งเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น ร่วมกับการปรับสภาพดินเพื่อเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินให้มากขึ้น การกระตุ้นความต้านทานต่อกล้าทุเรียนโดยใช้สาร *elicitors* ต่างๆ ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนให้ต้นกล้าเจริญเติบโตจนผ่านระยะเวลา 2 ปีแรก ทำให้ต้นทุเรียนมีความแข็งแรง และเจริญเติบโตจนให้ผลผลิตได้ในที่สุด

3. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อใช้เทคนิคทางชีวภาพ ในการควบคุมโรคไฟทอปโทราของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกอย่างแม่นยำ และมีประสิทธิภาพ
2. เพื่อจัดทำศูนย์การเรียนรู้การฟื้นฟูต้นทุเรียนที่ถูกเชื้อไฟทอปโทราเข้าทำลาย

4. แผนการดำเนินงานของโครงการ

1. สำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน แยกเชื้อ และพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรค
2. ควบคุมและรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกอย่างมีประสิทธิภาพ โดยทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ และทดสอบความสามารถในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในจานเพาะเชื้อ การทดสอบการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือน และการทดสอบฟื้นฟูต้นทุเรียนในสภาพแปลงปลูก
3. จัดทำศูนย์การเรียนรู้การฟื้นฟูโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน มีจัดการอบรม สัมมนา ศึกษาดูงานโดยใช้แปลงสาธิตที่สามารถฟื้นฟูอาการโรครากเน่าโคนเน่า ให้แก่เกษตรกรชาวสวนทุเรียนที่สนใจ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดใหญ่ อยู่ในสกุลและวงศ์ทุเรียน [Genus *Durio*, Bombacaceae (Malvaceae)] เจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในเขตที่มีสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 22-32 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 2,000 มิลลิเมตรต่อปี การกระจายตัวของฝนดี ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงประมาณ 75-85 % ดินมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ประมาณ 5.5-6.5 ซึ่งสภาพดังกล่าวสอดคล้องกับพื้นที่เขตร้อนของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยแหล่งปลูกหลักอยู่ที่ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย และเวียดนาม (Drenth and Guest, 2004)

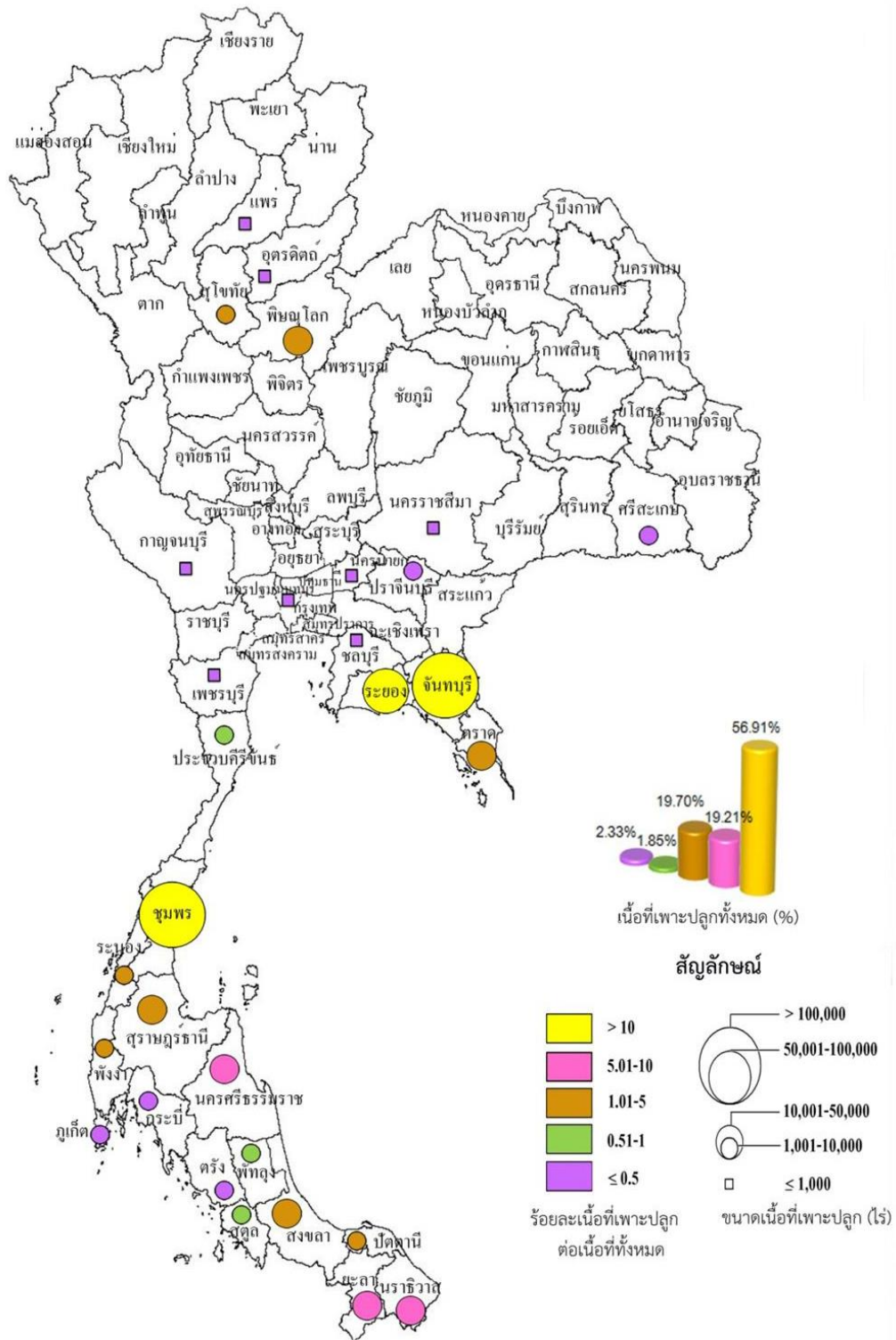
ทุเรียนเป็นผลไม้ยอดนิยมของประชากรในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยใช้บริโภคสดนำไปแปรรูป แช่แข็ง หรือทำให้แห้ง (Smith *et.al.*, 1992) โดยมีราคาสูงเมื่อเทียบกับผลไม้อื่นๆ ในประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และเวียดนามนั้นผลผลิตของทุเรียนมีเพียงแต่บริโภคภายในประเทศเท่านั้น ส่วนในมาเลเซียยังต้องนำเข้าทุเรียนโดยเฉพาะผลผลิตที่ออกนอกฤดูกาล โดยนำเข้าจากประเทศไทย สำหรับผลผลิตของทุเรียนที่บริโภคกันส่วนใหญ่ในโลกเป็นผลผลิตที่ได้จากประเทศไทยโดยไทยส่งออกผลผลิตทุเรียนประมาณ 10 % ของผลผลิตที่ผลิตได้ในประเทศ แต่คิดเป็นปริมาณมากถึง 80% ของตลาดผู้ส่งออกทุเรียนทั้งหมด (Guest *et.al.*, 1998) โดยตลาดทุเรียนสดของไทยคือฮ่องกง มาเลเซีย ไต้หวัน แคนาดา อเมริกา สิงคโปร์ และอินโดนีเซีย (Graef and Klotzbach, 1995) ในปี ค.ศ. 1995 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกทุเรียนประมาณ 128,000 เฮกตาร์ ซึ่งคิดเป็นพื้นที่ 11% ของพื้นที่ปลูกทุเรียนทั้งหมดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยพันธุ์ที่ใช้ปลูกเป็นการค้ามี 4 สายพันธุ์ (ชะนี กระดุมทอง ก้านยาว และหมอนทอง) จากสายพันธุ์ทุเรียนมากกว่า 200 สายพันธุ์ และผลผลิตทุเรียนจะออกในช่วงเดือนเมษายนถึงกันยายน ในปี ค.ศ. 1996 พบว่าไทยส่งออกทุเรียนเพียง 5.5% แต่สามารถนำรายได้เข้าสู่ประเทศมากถึง 1,536,000,000 บาท (Lim, 1998)

แหล่งปลูกทุเรียนของไทยส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออก และภาคใต้ (ภาพที่ 2) โดยในภาคตะวันออกจะอยู่ในพื้นที่ของจังหวัดจันทบุรี ระยอง และตราด โดยเฉพาะที่จังหวัดจันทบุรีเพียงจังหวัดเดียว พบว่ามีผลผลิตมากถึงครึ่งหนึ่งของผลผลิตรวมในประเทศไทย (กรมประชาสัมพันธ์, 2548) ส่วนในพื้นที่ภาคใต้จะอยู่ในพื้นที่ของจังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี ระนอง กระบี่ และพังงา เป็นต้น ส่วนการนำทุเรียนมาปลูกที่เขตภาคเหนือนั้น พบว่ามีผู้ที่พยายามนำมาปลูกเพื่อทดแทนการปลูกส้มในเขตอำเภอฝาง และแม่อาย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าต้นทุเรียนดังกล่าวจะแสดงอาการต้นแห้งตายจำนวนมากในสองปีแรกของการปลูก และหากต้นกล้าทุเรียนดังกล่าวสามารถเจริญรอดพ้นจากอาการแห้งตายในสองปีแรกมาได้จะสามารถปรับตัวให้อยู่รอดและเจริญจนให้ผลผลิตได้ ซึ่งจากการสำรวจแปลงของเกษตรกรที่อำเภอแม่อายพบว่ามีต้นกล้าทุเรียนที่รอดจากการปลูกในระยะ 1 ปีแรกมาแล้วจำนวน 30 ต้น จากจำนวนที่นำมาปลูกทั้งหมด 300 ต้น หรือคิดเป็น 10% ของจำนวนที่นำมาปลูก โดยพบว่ามีต้นทุเรียนที่รอดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* เพียงต้นเดียว ที่สามารถให้ผลผลิตได้ในปีแรกจำนวน 5 ผล ส่วนที่มีการนำกล้าทุเรียนมาปลูกในเขตอำเภอฝางนั้น พบว่ากล้าทุเรียนทั้งหมดจำนวน 1,000 ต้น จะแห้งตายโดยไม่มีต้นกล้าเหลือรอดแม้แต่ต้นเดียว (ข้อมูลนี้ได้จากการสัมภาษณ์จากเกษตรกรที่ปลูกทุเรียนในเขตอำเภอแม่อาย และอำเภอฝาง)

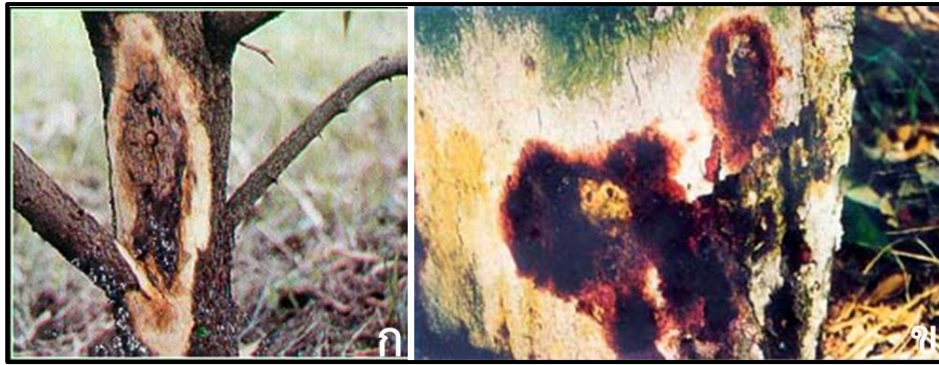
สำหรับปัญหาในการผลิตทุเรียนในปัจจุบัน พบว่ามีโรคสำคัญที่เข้าทำลายส่วนรากและโคนต้น ก่อให้เกิดรากเน่าโคนเน่าของทุเรียน (*Phytophthora* foot and root rot) จัดเป็นโรคที่รุนแรงและทำ

ความเสียหายให้กับทุเรียนมากที่สุดโรคหนึ่ง โรคนี้มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) โดยต้นที่เริ่มเป็นโรคพบใบไม้สมบูรณ์ ใบเล็กซีด มีสีเขียวอ่อนไปเหลือง ผิวใบไม่เป็นมัน หากแตกใบอ่อนจะมีขนาดเล็ก หยิกงอ โดยสีของใบจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดและใบร่วง กิ่งแห้งตายโดยเริ่มจากส่วนยอดก่อน เมื่อสำรวจบริเวณลำต้น กิ่งหรือราก บริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกชั้นคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของแผล (ภาพที่ 3) โดยโรคนี้อย่างสามารถเข้าทำลายในส่วนของผล ทำให้เกิดอาการผลเน่าได้ (ภาพที่ 4) ต้นที่เป็นโรครุนแรงมากพบมีน้ำยางไหลออกมา โดยเฉพาะในช่วงเวลาเช้าที่มีอากาศชื้น เชื้อรา *Phytophthora* สามารถแพร่กระจายโดยแพร่ไปกับน้ำ ดิน ใบ กิ่งพันธุ์ และผล โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีลมพายุ และความชื้นสูง จะเหมาะสมกับการแพร่กระจายและเข้าทำลายต้นทุเรียนได้ดี เชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรคนี้อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคและในดินโดยอยู่ในรูปของ chlamydospores, sporangia และเส้นใย (ภาพที่ 5) โดย zoospores ของเชื้อราที่ผลิออกมาจาก sporangia จำนวนมากถึง 50% จะสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ภายใน 7 ชั่วโมง และสามารถเข้าทำลายพืชได้ 100% ภายใน 17 ชั่วโมง โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราจะอยู่ที่ 23.0-29.0 องศาเซลเซียส โดยช่วงอุณหภูมิต่ำสุดจะอยู่ที่ 11.5 องศาเซลเซียสและสูงสุดอยู่ที่ 33.0 องศาเซลเซียส (Kobayashi *et.al.*, 1978)

เชื้อรา *Ph. palmivora* มีพืชอาศัยจำนวนมากนับพันชนิด ทั้งที่เป็นไม้ผลและธัญพืช เช่น โกโก้ มะละกอ ทุเรียน สับปะรด ส้ม พริกไทย และมะพร้าว เป็นต้น โดยก่อให้เกิดอาการต่างๆ ได้แก่ root rot, collar rots, stem cankers, leaf blights และ fruit rot โดยเฉพาะในเรือนปลูกทดลองอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงได้ด้วยการก่อให้เกิด seedling blight ทำให้พืชตายได้ เชื้อรานี้มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ปัจจุบันพบแพร่ระบาดไปทั่วโลก (Drenth and Guest, 2004)



ภาพที่ 2 แหล่งเพาะปลูกทุเรียนในประเทศไทย ปี 2555 (ที่มา: <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/ebook/commodity55.pdf>)

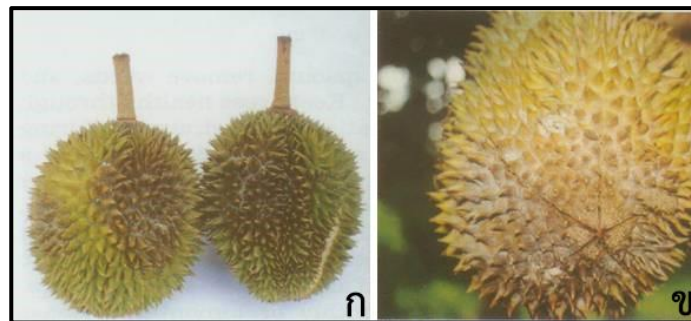


ภาพที่ 3 ลักษณะอาการเน่าที่โคนต้นทุเรียนสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*

(ก) อาการเน่าบริเวณลำต้นทุเรียน

(ข) ภาพขยายอาการเน่าบริเวณลำต้นทุเรียน

(ที่มา: http://www.agriqua.doae.go.th/plantclinic/Clinic/plant/durian/root_stem.html)



ภาพที่ 4 ลักษณะอาการเน่าที่ผลทุเรียนสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*

(ก) อาการผลเน่าบนผลทุเรียน

(ข) ภาพขยายอาการเน่าบนผลทุเรียน

(ที่มา: http://www.fftc.agnet.org/library.php?func=view&id=20110901051439&type_id=7)



ภาพที่ 5 เชื้อรา *Phytophthora palmivora*

(ก) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

(ข) ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ที่มา: Phung et. al., 2015)

สำหรับการบริหารจัดการเกี่ยวกับเชื้อรา *Ph. palmivora* สามารถทำได้โดยการเขตกรรม การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมี วิธีการทางเขตกรรม เช่น การตัดแต่งทรงพุ่มให้โปร่งเพื่อลดความชื้นใน

ทรงพุ่ม การใช้วัสดุคลุมโคนต้นเพื่อรักษาความชื้นในดินและเร่งการแตกรากของทุเรียน การตัดกิ่งที่แห้งตาย การขุดเอาเนื้อเยื่อที่ตายออก และทาด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อราสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมได้แก่ phosphonates, metalaxyl หรือ copper hydroxide ที่ใช้ทาบริเวณแผลที่ลำต้น เป็นต้น (Drenth and Guest, 2004) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเชื้อรา *Ph. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่านี้ มีการดื้อต่อสารเคมีดังกล่าวมากขึ้น มีผลทำให้การป้องกันกำจัดด้วยการใช้สารเคมีไม่ได้ผล (Drenth and Guest, 2004)

จากการสำรวจพื้นที่สวนทุเรียนที่จังหวัดตราด และจันทบุรีในปีที่ผ่านมา พบว่าโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนมีการระบาดอย่างรุนแรง (ภาพที่ 6ก) เกษตรกรได้พยายามใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดโรคดังกล่าวด้วยการขุดเนื้อเยื่อในส่วนที่ตายออกและทาด้วยสารเคมี (ภาพที่ 6ข) และฉีดยาที่ทรงพุ่ม และใช้สารเคมีราดที่โคนต้น แต่พบว่าสารเคมีดังกล่าวเริ่มมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องที่อาจก่อให้เกิดการดื้อต่อสารเคมีดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตาม จากการสำรวจพื้นที่สวนของเกษตรกร ที่ประสงค์จะเข้าร่วมโครงการของนายไพจิตรและนางนัยนภา ต่ายแถมทอง พบว่าสวนดังกล่าวมีเนื้อที่ 150 ไร่ โดยปลูกพันธุ์ทุเรียนหมอนทองทั้งหมด การปลูกมีระยะระหว่างต้น 9 เมตร (9X9) หรือประมาณไร่ละ 19 ต้น ซึ่งทุเรียนในสวนมีอายุตั้งแต่ 1-20 ปี ทั้งนี้เป็นเพราะเมื่อเริ่มปลูกทุเรียนไปได้ประมาณ 6-7 ปีพบว่าทุเรียนเริ่มเป็นโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Ph. palmivora* และเริ่มมีต้นทุเรียนที่ตาย จึงทำการปลูกซ่อมเรื่อยมา ดังนั้นทุเรียนในสวนจึงมีอายุมากที่สุดอยู่ที่ 20 ปี และน้อยสุดคือประมาณ 1 ปี สำหรับผลผลิตในต้นที่สมบูรณ์และมีขนาดต้นใหญ่สุดอยู่ที่ประมาณ 450 ผล/ต้น (ขนาดผลเฉลี่ย 2-3 กิโลกรัม) แต่ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ต้นละประมาณ 150 ผล ซึ่งจากการสำรวจพบว่าต้นทุเรียนในสวนทุกต้นถูกเชื้อรา *Ph. palmivora* เข้าทำลาย โดยต้นที่แสดงอาการรากเน่าและโคนเน่าที่เห็นได้ชัดประมาณ 60% ซึ่งในจำนวนนี้ ประมาณครึ่งหนึ่ง หรือ 30% แสดงอาการรุนแรงที่จะต้องตัดทิ้งและทำการปลูกซ่อม



รูปที่ 6 อาการโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

- (ก) อาการเปลือกแตกยางไหล ใบร่วง กิ่งแห้งตายจากยอด
- (ข) การรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนของเกษตรกร ใช้วิธีขุดเนื้อเยื่อบริเวณแผลบริเวณโคนต้น และ ตามกิ่งของทุเรียน จากนั้นจึงใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราเมทาแลกซิลทาบริเวณที่เป็นโรค

การควบคุมโรคด้วยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี คือการควบคุมโรคโดยใช้จุลินทรีย์ หรือสิ่งที่มีชีวิตชนิดอื่นภายใต้สภาพธรรมชาติ หรือในสภาพที่สร้างขึ้น ซึ่งภายใต้สภาพแวดล้อมดังกล่าว มีความอยู่รอด หรือกิจกรรมของเชื้อโรคถูกจำกัด หรือลดลงโดยพวกจุลินทรีย์เหล่านั้น เป็นผลให้เกิดโรคหรือความรุนแรงของโรคลดลง เพื่อลดระดับประชากรของเชื้อสาเหตุโรคพืชให้อยู่ในระดับที่พืชทนทานได้ เป็นการลดการเกิดโรค หรือลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อโรค ซึ่งอาจรวมไปถึงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พันธุกรรม หรือผลผลิตที่เกิดจากพันธุกรรมด้วย (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2536) ปัจจุบันการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธีเป็นวิธีที่เกษตรกรจำนวนมากนิยมใช้ และนักวิชาการเกษตรต่างเห็นความสำคัญเพื่อใช้แทนสารเคมีมากขึ้น ซึ่งมีทั้งการนำมาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิต และแก้ปัญหาหมอลพิษจากสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดโรคพืช

กลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อจุลินทรีย์

เกษม (2532ก) ได้อธิบายกลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ทั้งที่พบในธรรมชาติหรือที่มีการนำมาเพาะเลี้ยง และขยายเพิ่มจำนวน เพื่อผลิตเป็นการค้า ต่างมีกลไกในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายรูปแบบ ซึ่งแต่ละรูปแบบก็มีผลแตกต่างกัน โดยจัดประเภทของกลไกการเป็นปฏิปักษ์ ดังนี้

1. การเป็นปรสิตโดยตรง (parasite) หมายถึงการที่เชื้อปฏิปักษ์เข้าทำลายองค์ประกอบต่างๆ ภายในเชื้อสาเหตุโรคโดยตรง
2. การเป็นตัวห้ำ (predator) เป็นวิธีการที่คล้ายกับการเป็นปรสิต แตกต่างกันในวิธีการกินหรือการทำลาย กล่าวคือตัวห้ำเป็นการกินทั้งตัว เช่นไส้เดือนฝอย *Ditylenchus myceliophagus* กินเชื้อราหรือเส้นใยของดอกเห็ด ไส้เดือนฝอย *Monochus* spp. และ *Mylonchulus* spp. กินไส้เดือนฝอยชนิดอื่นเป็นอาหาร เป็นต้น
3. การแข่งขันกันเอง คือ การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าครอบครองพื้นที่ เพื่อเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเข้าทำลายพืชได้ เช่น การพ่นสปอร์ของเชื้อรา *Phlebia gigantea* ลงบนตอของต้นสนที่ตัดใหม่ สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Heterobasidium annosum* ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าลงได้ เนื่องจากเชื้อรา *Phlebia gigantea* สามารถเข้าไปยึดครองพื้นที่ผิวหน้าของตอไม้สนได้ และช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อรา *H. annosum* เข้าทำลายและลุกลามต่อไปยังระบบรากจนทำให้เกิดโรครากเน่าได้
4. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินหลายชนิด
5. การสร้างภูมิต้านทาน หมายถึง การใช้สายพันธุ์ของเชื้อโรคที่ไม่รุนแรง หรือจุลินทรีย์ต่างชนิด พ่นไปยังต้นพืช เพื่อกระตุ้นกระบวนการป้องกันตนเองของพืช ต่อการเข้าทำลายของเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงกว่า

วิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคที่เกิดกับพืชได้หลายส่วน ทั้งระบบราก ส่วนผิวดิน และส่วนเหนือดินขึ้นไป โดยมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกันดังนี้

1. บริเวณผิวดิน สามารถใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้ และแต่ละวิธีมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของพืชเอง และลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่มีหลายรูปแบบ

- 1.1. การคลุกเมล็ด นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก โดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก ช่วยให้คลุกง่าย และไม่สิ้นเปลืองหากจุลินทรีย์อยู่ในรูปแบบผง มักนิยมใช้วิธีคลุกเมล็ดก่อนปลูก
- 1.2. การราดดิน เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมาก แต่ไม่สะดวกหากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรที่น้ำไม่เพียงพอ และถ้าปลูกพืชพื้นที่กว้างจะยังไม่สะดวกในการปฏิบัติ
- 1.3. การคลุกดิน เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อ หรือสารละลายเชื้อไปปฏิบัติใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช ซึ่งสะดวกในการปฏิบัติ
- 1.4. การจุ่มราก เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ต้องเพาะด้วยเมล็ด และย้ายกล้าปลูก เช่น พริก มะเขือเทศ หรือพืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยจะต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกให้หมดก่อนนำไปจุ่มในสารละลายเชื้อที่เข้มข้นประมาณ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิบัติมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดี เพราะรากสัมผัสกับเชื้อได้ทุกส่วน มีพื้นที่ให้เชื้อสาเหตุโรคสัมผัสได้น้อยลง
2. บริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน มีวิธีใช้ที่นิยม 2 วิธีคือ
 - 2.1. การทา เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่มีแผลปรากฏให้ชัดเจนบนส่วนต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิบัติที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียว ทาเพื่อยึดติดกับผิวพืชได้คงทน
 - 2.2. การพ่น เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกปริมาณมาก หรือมีลำต้นสูงโดยใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช

กลไกการควบคุมโรคพืชของเชื้อรา *Chaetomium* spp.

การสร้างสารปฏิชีวนะ

การสร้างสารปฏิชีวนะเป็นกลไกที่สำคัญที่นำมาคัดเลือกการเป็น เชื้อราปฏิบัติ เป็นการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งโดยการสร้างสารของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวอาจจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำให้ตายได้ โดย Klakpeh and Soyong (2000) รายงานว่า การใช้เชื้อจาก *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* ควบคุมโรคแอนแทรคโนสของปรงที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่สวนนงนุช โดยจุลินทรีย์ต่อต้านจะควบคุมเชื้อโรคโดยการพันรัดของเส้นใย ทำให้เส้นใยของเชื้อโรคแตกสลาย และ การสร้างสารปฏิชีวนะในการทำลายเชื้อสาเหตุโรค Kanokmedhakul *et al.*, (2002) รายงานว่า *Ch. globosum* KMITL 0802 สามารถผลิตสาร chaetoglobosin-C ซึ่งสามารถนำไปใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ นอกจากนั้น Kanokmedhakul *et al.* (2006) ยังพบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* ผลิตสาร rotiorinols A-C และ rotiorin ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ซึ่งเชื้อราเป็นสาเหตุโรคในมนุษย์ได้

การเป็นปรสิต

การเป็นปรสิตของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* จะเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค และทำการแทงผ่านเส้นใยเข้าไปสู่เส้นใยเชื้อสาเหตุโรคจากนั้นจะทำการปล่อยสารปฏิชีวนะทำให้เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคเกิดความผิดปกติ และได้รับเอนไซม์ cellulase ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคแตกสลายอีกด้วย ในรายงานของ Hung *et al.* (2015) เรื่อง Efficacy of *Chaetomium* Species as Biological Control Agents against *Phytophthora nicotianae* Root Rot in Citrus ได้แสดงกลไกของการพันรัดเส้นใยเชื้อสาเหตุโรค (*Ph. nicotianae*)

KA1) โดย เชื้อรา *Chaetomium* พันธุ์เส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อ *Phytophthora palmivora* สาเหตุการเกิดโรครากเน่าของส้มโอ

การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรคพืช

เกษม (2532ข; 2533) ทำการทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Ch. cochliodes* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในระยะต้นกล้า ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Py. oryzae* ด้วยการทดลองเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคร่วมกับเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. cochliodes* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Py. oryzae* ได้ดี และยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในระยะต้นกล้า โดยการใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* และ *Ch. cochliodes* และสารสกัดหยาบของสารทุติยภูมิของเชื้อราทั้งสองชนิด คลุกเมล็ดข้าว พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา captan เช่นเดียวกันกับการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวาน ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* พบว่าสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ทั้งที่ยังมีชีวิต และไม่มีชีวิต สามารถควบคุมการเกิดโรคได้เท่ากับการใช้สารเคมี PCNB (เกษม, 2532ค)

เกษม (2534ก) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pseudomonas solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ และสภาพไร่พบว่าจากการเลี้ยงเชื้อร่วมกันบนจานอาหาร PDA โดยนำเชื้อแบคทีเรียมาทำ dilution plate ที่ความเข้มข้น 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} หรือ 10^{-6} ซึ่งเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-5} มีค่าเฉลี่ยในการยับยั้งสูงสุดคือ 8.1 และ 8.2 มิลลิเมตร โดยทำการทดลองในชุดควบคุมเท่ากับ 2.8 มิลลิเมตร สำหรับในสภาพไร่ การใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Ch. cupreum* สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ control ฉีดทุก 20 วัน พบว่าการใช้สปอร์แขวนลอย และสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ลดการเกิดโรคสูงสุด 14 % และการใช้สปอร์แขวนลอยมีความสูงของต้นเฉลี่ยสูงสุด 64.65 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดควบคุมมีความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ 46.55 เซนติเมตร

เกษม (2534ข) รายงานว่าจากการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. gracile* ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยใช้วิธี bi-culture test พบว่าเชื้อรา *Ch. gracile* สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 52 % และเมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ถูกทำลายโดยมีการจับตัวกันของ protoplast ภายในเซลล์เป็นก้อน และมีการไหลออกนอกเซลล์ในบางส่วน สำหรับในสภาพเรือนทดลอง หลังจากฉีดพ่นสปอร์สดของเชื้อรา *Ch. gracile* ลงดินบริเวณรอบโคนต้นมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดอาการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี benzimidazole และให้ผลผลิตต่อต้นสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เกษม (2534ค) ได้ทำการทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Chaetomium globosum* ในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia lunata* สาเหตุโรคใบจุดข้าวโพดหวาน โดยวิธีการทดสอบการเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture test) พบว่า เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ 74 % และมีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร และในสภาพโรงเรือนทดสอบ พบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถควบคุมโรคใบจุดข้าวโพด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค เท่ากับ 26-27 % โดยมีผลใกล้เคียงกับการ

ใช้สารเคมี และพบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* มีแนวโน้มที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เกษม (2535) ทดลองการใช้ชีวภัณฑ์จาก *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดกับมะเขือเทศพันธุ์สีดา สาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพไร่ พบว่ามะเขือเทศมีการเกิดโรคต่ำเพียง 7% ในขณะที่แปลงที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์มีการเกิดโรคถึง 28% และแปลงทดลองที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้ผลผลิตสูงกว่าแปลงทดลองที่ไม่ใช้ชีวภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เกษมและชลญา (2536) รายงานผลการเลี้ยงเชื้อรา *Ch. cupreum* ร่วมกับเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. ultimum* ที่ 49.42% ในสภาพห้องปฏิบัติการ ในสภาพเรือนทดลองพบว่าการใช้สารสกัด จากเชื้อรา *Ch. cupreum* และสารชีวผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Ch. cupreum* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. ultimum* เท่ากับ 50.0 และ 50.7%

เกษม (2536) ได้ทำการศึกษาและทดลองเพื่อพัฒนาเชื้อรา *Chaetomium* สำหรับเป็นชีวภัณฑ์ พบว่าเชื้อ *Chaetomium* สามารถแสดงศักยภาพในการเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยจะทำให้ลายความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในเชื้อสาเหตุโรคทำให้เซลล์ของ conidia แตก ซึ่งส่งผลให้ protoplast ไหลออกจากเซลล์เชื้อรา และส่งผลให้เชื้อก่อโรคมมีความรุนแรงลดลง

เกษม (2539) ผลการทดสอบเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ โดยการใช้สปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* 5×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* และสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่ทำให้ตายด้วยความร้อน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี PCNB และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการสร้างเม็ด sclerotium ได้ 81.15% ในสภาพไร่การใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* และสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่ตายราดโคนต้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคประมาณ 12-14 % ในขณะที่ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 44%

สนชัย (2540) พบว่าการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ 85% ในขณะที่การใช้สารเคมี metalaxyl ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ 70% และในสภาพไร่พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* อัตรา 40 กรัมต่อต้น ในปีแรกลดการเกิดโรคได้ 76.27% และในปีที่สอง 81.04% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา metalaxyl ในอัตรา 40 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคในปีแรกได้ 70.95% และในปีที่สองได้ 70.52% ตามลำดับ

สุมิตรา (2540) ทำการทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* IFFI ในสภาพแปลงทดลอง พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสได้ 55.93% โดยที่การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราลดการเกิดโรคได้ 50.16% และลดปริมาณเชื้อสาเหตุได้ 23.83% ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบมีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น

พรพรรณ (2544) รายงานว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 10 กิโลกรัมต่อต้น หรือการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในอัตรา 2.5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น และปุ๋ยอินทรีย์ 10 กิโลกรัมต่อต้น พบว่าสามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าได้ของส้มได้

วิเชียร (2544) พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น สามารถลดปริมาณของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในดินได้ และส่งผลให้ระดับอาการโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มลดลงด้วย ในขณะที่การใช้สารเคมี metalaxyl ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น ไม่สามารถลดการเกิดโรคได้

Soytong and Soytong (1996) รายงานว่าเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น *P. palmivora*, *P. parasitica* และ *Ch. gloeosporoides*. โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Sodsa-art and Soytong (1999) รายงานการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* โดยใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma*, *Chaetomium* ชนิดเม็ด และการใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* ร่วมกับ ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Chaetomium* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี metalaxyl และชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้ชีวภัณฑ์ พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* ร่วมกับชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Chaetomium* ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุดคือ 8.60% รองลงมาได้แก่การใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Trichoderma* และการใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 10.92 และ 22.66% ตามลำดับ สำหรับการใช้สารเคมี metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 21.88% และการทดลองในชุดควบคุมพบว่าการเกิดโรค 71.63%

Tveit and Moore (1954) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวโอ๊ต แล้วนำมาควบคุมเชื้อรา *Helminthosporium victoriae* สาเหตุโรคเมล็ดไหม้ของข้าวโอ๊ตทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ซึ่งจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. พบว่าสามารถควบคุมเชื้อรา *H. victoriae* โดยจะปรากฏบริเวณ clear zone ระหว่างเชื้อราทั้งสอง และในสภาพเรือนทดลองพบว่า *Chaetomium* spp. สามารถควบคุมโดยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *H. victoriae* ต่อเมล็ดข้าวโอ๊ต และพบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถดำรงชีวิตในสภาพดินได้ 3 เดือนทั้งในสภาพดินแห้งและชื้น ในสภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Kommedahl and Chang (1968) รายงานว่าเชื้อรา *Chaetomium globosum* สามารถเจริญบริเวณเปลือกหุ้มข้าวโพดหวาน และเมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคไหม้ข้าวโพดหวานในระยะต้นกล้าในสภาพโรงเรือนทดลอง และสภาพแปลงปลูกทดลอง ภายใต้อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถควบคุมการงอกของเมล็ดข้าวโพดหวานได้ และมีผลต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทั้งระบบรากน้ำหนักกล้าต้นในสภาพสดและแห้ง โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการทดลองที่ใช้สารเคมี captan และการทดลองในชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้เชื้อรา *Ch. globosum* ยัง สามารถควบคุมโรคไหม้ข้าวโพดหวาน ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *F. oxysporum* f. sp. *cerealis*

Hubbard et al. (1983) รายงานว่าจากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. พบว่าเมื่อคลุกเมล็ดข้าวด้วยสปอร์สดของเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงกว่าการทดลองเปรียบเทียบชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการคลุกเมล็ด

Johnston and Booth (1983) รายงานว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคต่าง ๆ ได้ และบาง species เช่น *Ch. globosum* และ *Ch. cochliodes* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่ใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคทางดินและโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช เช่น เชื้อรา *Helminthosporium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. และ *Rhizoctonia* spp. ตามลำดับ

Heye and Andrews (1983) รายงานว่าจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา ในการควบคุม โรคแอปเปิ้ลสแคปที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Venturia inaequalis* โดยการฉีดพ่นสปอร์สดบนใบพืช ซึ่งพบว่า เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคได้ 60 และ 90 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุด ควบคุมที่ไม่ได้ทำการฉีดพ่นเชื้อรา

Cullen and Andrews (1984) รายงานการใช้เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถลดและป้องกันการ ติดเชื้อของต้นกล้าแอปเปิ้ล ที่เกิดจากเชื้อรา *Venturia inaequalis* ได้ผลมากกว่า 90 % โดยขบวนการสร้าง สารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Ch. globosum* และมีผลโดยตรงต่อโครงสร้างของเชื้อราสาเหตุโรค

Manandhar *et al.* (1987) รายงานว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบราก และเมล็ดของถั่วเหลือง สามารถทำหน้าที่เป็นปรสิตต่อเชื้อรา *Fusarium roseum* และ *Gliocladium roseum* และมีผลต่อโครงสร้างเซลล์ของเชื้อรา *Acremonium* sp. โดยทำให้เซลล์แตก โครงสร้างของ เซลล์เสีย

Boudreau and Andrews (1987) รายงานการใช้เชื้อรา *Ch. globosum* ในการเป็นจุลินทรีย์ ต่อต้านโรคแอปเปิ้ลสแคป โดยการฉีดพ่น ascospore ลงบนใบแอปเปิ้ลใน growth chamber และใน สภาพไร่นา พบว่าเชื้อรา *Venturia inaequalis* ไม่สามารถเจริญที่ผิวใบแอปเปิ้ล และก่อโรคสแคปได้นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสารสกัดจากเชื้อ *Ch. globosum* ต่อเชื้อราใน ห้องปฏิบัติการจะลดลงหากทำการบ่มเชื้อไว้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5, 7.0 และ 8.8 โดยจะลดลงมากที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 11.1

Albertini *et al.* (1990) รายงานว่าเชื้อรา *Ch. globosum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้าง สปอร์ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis cineria* อีกด้วย (Kohl *et al.*, 1995)

Di-Piero *et al.* (1992) พบว่าสารสกัดที่ได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการ เจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าระดับดินของผักกาดหัว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้ โดยสารสกัดคือ 2-(buta-1,3-dienyl) 3-hydroxy-4-(penta-1,3-dienyl)-tetrahydrofuran (BHT), epidithiadiktopiperazine และ chaetomin นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อรา *Chaetomium globosum* สามารถควบคุมโรคเน่าสีขาวของหอม (onion white rot) และลดการเกิดโรคได้ 78 เปอร์เซ็นต์ และยังพบ การสร้างสารปฏิชีวนะในอาหารอีกด้วยในขณะที่ Amemiya *et al.* (1994) รายงานการพบสารปฏิชีวนะที่ ผลิตได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* คือ chaetoglobosin A ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Verticillium dahlia* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวที่เกิดกับมะเขือเทศได้และยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ในสภาพ การเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี dual culture

Heller and Theiler (1994) ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *Ch. globosum*, *Gliocladium virens* และ *T. viride* ในการสร้างสารปฏิชีวนะและเป็นเชื้อปรสิตของเชื้อรา *Phytophthora* 4 ชนิด คือ *Ph. cinnamoni*, *Ph. cactorum*, *Ph. fragariae* และ *Ph. nicotinae* พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสามชนิด สามารถเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Phytophthora* spp. และสามารถทำลายเซลล์ของเชื้อให้แตก ได้ นอกจากนั้นยังพบว่าสารเคมีซึ่งมีชื่อการค้าว่า benlate มีผลทำให้ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน ลดลง โดยเมื่อทดสอบใน dual culture พบว่าจุลินทรีย์ต่อต้านลดความสามารถในการควบคุมโรคหลังจาก ถูกทดสอบเป็นเวลา 77 วัน

Amemiya *et al.* (1994) พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum* คือ chaetoglobosin A สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Verticillium dahliae* ได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 32 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตรและสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *V. albo-atrum* และ *Rhizoctonia solani* ตามลำดับ

Soytong *et al.* (1999) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ชนิดเม็ดและชนิดผง ที่ผลิตจากเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยใช้ในอัตรา 0.3, 0.5, และ 1.0 กรัม ต่อต้น พบว่าการใช้เชื้อรา *Chaetomium* ที่อัตรา 1 กรัม สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

บทที่ 3

สำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน แยกเชื้อ และพิสูจน์ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับทุเรียน ในห้องปฏิบัติการ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนเป็นปัญหาหนึ่งที่ทำให้พื้นที่การปลูกทุเรียนในประเทศไทยลดลงอย่างรวดเร็ว ลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏของทุเรียนในระยะรุนแรง สามารถเห็นได้อย่างเด่นชัดโดยพบผิวเปลือกบริเวณโคนต้นมีอาการฉ่ำน้ำและมีน้ำยางสีน้ำตาลเข้มไหลออกมา เมื่อลอกเปลือกออกพบเนื้อเยื่อใต้เปลือกเป็นแผลสีน้ำตาลหรือเป็นลายริ้วเน่าแฉิมเป็นบริเวณกว้างตามลำต้น เชื้อสาเหตุสามารถเจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช ทำให้แผลเน่าแฉิมขยายใหญ่ไปตามลำต้น ราก รอบโคนต้น และลึกเข้าไปในท่อน้ำ ท่ออาหารต่อมาต้นทรุดโทรม เหี่ยวใบร่วงและยืนต้นตายในบางท้องที่ ในระยะเริ่มแรกอาจไม่มีการแสดงอาการโคนเน่า แต่พบอาการที่ระบบราก รากฝอยจะแห้งถอดปลอกไม่แตกรากอ่อน ต้นทรุดโทรม ลักษณะอาการที่ปรากฏอาจสับสนกับอาการของโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ จึงต้องตรวจดินและรากพืช เพื่อยืนยันสาเหตุของโรค และวางแผนการป้องกันกำจัดโรคได้ถูกต้องที่สุด

3.1 การสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในแปลงเกษตรกรที่ร่วมโครงการ

สำรวจสวนทุเรียนของเกษตรกรเพื่อประเมินสถานการณ์ของโรคไฟทอปโทราในแต่ละพื้นที่ คัดเลือกแปลงทดลอง และเก็บตัวอย่างเปลือกไม้ และรากบริเวณที่แสดงอาการเน่า และดินบริเวณรอบโคนต้น เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อสาเหตุ โดยได้ทำการสำรวจสวนทุเรียนทั้งหมด 5 สวน ดังตารางที่ 1

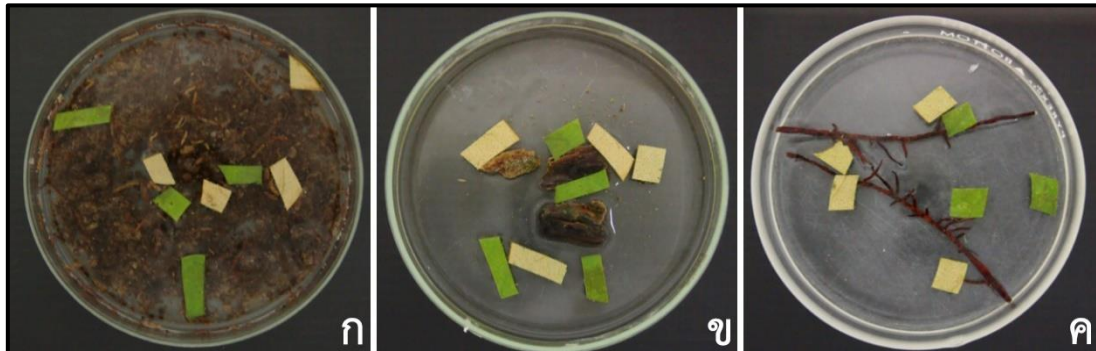
ตารางที่ 1 พื้นที่สวนทุเรียนที่ทำการสำรวจเพื่อประเมินสถานการณ์ของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

สวน	พื้นที่	ระยะเวลาศึกษา
1.	อ.ท่าใหม่ จ. จันทบุรี	สิงหาคม, 2560
2.	อ.เขาคิชฌกูฏ จ. จันทบุรี	สิงหาคม, 2560
3.	อ.พพระ จ. ตาก	พฤษภาคม, 2560
4.	อ.ลับแล จ. อุตรดิตถ์	พฤษภาคม, 2560
5.	อ.เวียงเชียงรุ้ง จ. เชียงราย	กันยายน, 2560

3.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

ทำการการแยกเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยใช้วิธีเหี่ยล่อตามวิธีการของ Soyong *et. al.* (1999) โดยนำส่วนของรากทุเรียนที่เน่า เปลือกไม้ของต้นทุเรียนที่เน่า หรือจากดินบริเวณรากทุเรียนที่เน่ามาใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยใส่ให้หนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นเทน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้วเทลงไปในถ้วยราก หรือดินดังกล่าวโดยให้ท่วมประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วจึงนำไปทุเรียนในระยะเพสลาด (ไม่อ่อนหรือแก่) จากต้นทุเรียนสายพันธุ์เดียวกับที่เป็นโรค (ต้นที่เป็นพืชอาศัย) มาฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร มาลอยบนผิวน้ำดังกล่าว นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องตรวจผลทุกๆ 6 ชม. (ภาพที่ 7) จะสังเกตเห็นบริเวณ รอบขึ้นของใบทุเรียนมีเส้นใยเจริญอยู่โดยรอบ เมื่อนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบเส้นใย และ sporangia ของเชื้อราเจริญอยู่ นำขึ้นใบทุเรียนมาล้าง

ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง จากนั้นใช้ปลายเข็มเขี่ย เชี่ยเส้นใยบริเวณรอบใบทุเรียน มาเพาะเลี้ยงใน water agar บ่มเชื้อไว้ 6 ชม. จากนั้นใช้เข็มเขี่ยตัดปลายเส้นใยตรงขอบ colony ออกมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ก็จะได้เชื้อบริสุทธิ์ตามต้องการได้



ภาพที่ 7 วิธีการล่อเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนจากส่วนต่างๆ ของทุเรียน โดยใช้ใบทุเรียน

(ก) การล่อเชื้อโดยใช้ดินบริเวณรอบโคนต้นทุเรียน

(ข) การล่อเชื้อโดยใช้เปลือกไม้ทุเรียน

(ค) การล่อเชื้อโดยใช้รากทุเรียนที่แสดงอาการเน่า

3.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

นำเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากข้อ 3.2 มาศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับใบทุเรียน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Soyong *et al.* (2005) โดยคัดเลือกใบทุเรียนที่มีอายุใกล้เคียงกันหรือเก็บจากตำแหน่งเดียวกันจากแต่ละกิ่งของทุเรียนในแปลงปลูก ใบมีอายุพอเหมาะคือไม่อ่อนหรือแก่เกินไป (ระยะเฟสลาด) นำใบมาทำความสะอาดและฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% Clorox และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำใบใส่ในจานเพาะเชื้อ (Petri dish) ที่มีกระดาษกรอง 2 ชั้นวางอยู่บนจาน เติมน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไป 2 ml เพื่อรักษาความชื้นในจาน จากนั้นนำปลายเข็ม 5 เล่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการลนไฟรอให้เย็นแล้วแทงที่ใบทุเรียน แล้วจึงตัดโคโลนีของเชื้อราสาเหตุด้วย cork borer (ขนาด 0.5 cm) มาวางบนแผล นำไป incubate ใน moist chamber ที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน ตัวควบคุมใช้วุ้นเปล่าวางแทนเชื้อสาเหตุ (ภาพที่ 8) จากนั้นประเมินระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุจาก disease index (DI) ดังนี้ ระดับ 1 = ใบพืชปกติไม่เกิดแผล, ระดับ 2 = แผลกว้าง 0.5-1.0 เซนติเมตร, ระดับ 3 = แผลกว้าง 1.1-2.5 เซนติเมตร, ระดับ 4 = แผลกว้างกว่า 2.5 เซนติเมตร โดยแต่ละไอโซเลททำการทดลอง 4 ซ้ำ



ภาพที่ 8 วิธีการทดสอบเพื่อประเมินความสามารถการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

3.4 การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับต้นกล้าทุเรียน (seedling test method)

เพาะต้นกล้าทุเรียนในกระถางพลาสติกใส ปลูกในดินที่ผสมปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วน 9 : 1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำต้นกล้าทุเรียนไปไว้ในเรือนปลูกทดลองเป็นเวลา 1 เดือน จึงทำการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ (zoospores) แขนวลอยของเชื้อราสาเหตุโรค ในอัตรา 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ตามวิธีการของ Chen *et al.* (1987) โดยรดด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค บริเวณโคนต้นกล้าทุเรียน สำหรับชุดควบคุมรดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแทน โดยทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรค หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่พบอาการรากเน่า

ระดับ 1 = พบรากเน่า 1-25%

ระดับ 2 = พบรากเน่า 26-50%

ระดับ 3 = พบรากเน่า 51-75%

ระดับ 4 = พบรากเน่า 76-100%

3.5 ศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำแนกชนิดด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา

ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อราจากเส้นใยของเชื้อราบริสุทธิ์ที่เลี้ยงได้ ประยุกต์ตามวิธีของ Kosuke *et al.* (2012) โดยชุดเส้นใยเชื้อราลงใน microcentrifuge tube ที่มี TE buffer ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 20 μ l จากนั้นนำไปต้มด้วย water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และบ่มด้วยความเย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 13,000 รอบ/นาที (revolutions per minute: RPM) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ในตำแหน่ง ITS (Internal Transcribed spacer) ด้วยไพรเมอร์ ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') และ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') และตำแหน่ง LSU (28S Large subunit) ด้วยไพรเมอร์ LR0R

(5'-ACCCGCTGAACCTTAAGC-3') และ LR5 (5'-TCCTGAGGGAACTTCG-3') โดยมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาดังนี้

สารละลาย	ปริมาตร
Forward primer	1 μ l
Reverse primer	1 μ l
Master mix	10 μ l
Distil H ₂ O	7 μ l
DNA template	1 μ l
รวม	20 μ l

หมายเหตุ: Master mix ประกอบด้วย Taq DNA polymerase, dNTPs, MgCl₂ และ buffer

เตรียมสารเคมีตามอัตราส่วนข้างต้นในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 200 μ l. แล้วนำเข้าเครื่อง Thermal cycle หรือ PCR machine โดยกำหนดอุณหภูมิ และเวลาแต่ละขั้นตอนในปฏิกิริยา ดังนี้ Condition สำหรับตำแหน่ง ITS

Stage1	initial denaturation	อุณหภูมิ	95 °C	เป็นเวลา	2 นาที	} 35 รอบ
Stage2	template denaturation	อุณหภูมิ	95 °C	เป็นเวลา	30 วินาที	
	primer annealing	อุณหภูมิ	52 °C	เป็นเวลา	30 วินาที	
	extension	อุณหภูมิ	72 °C	เป็นเวลา	1 นาที	
Stage3	primer extension	อุณหภูมิ	72 °C	เป็นเวลา	10 นาที	
Stage4		อุณหภูมิ	4 °C	เป็นเวลา	∞	

ผลการทดลอง

3.1 การสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในแปลงเกษตรกรที่ร่วมโครงการ

สวนที่ 1 ตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี มีพื้นที่ประมาณ 10 ไร่ ปลูกทุเรียน ประมาณ 200 ต้น อายุประมาณ 10 ปี บริเวณสวนมีการกำจัดวัชพืช โดยใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช สภาพต้นทุเรียนมีตั้งแต่ต้นที่มีลักษณะปกติ แต่เมื่อขุดดูบริเวณราก พบว่ารากฝอยแสดงอาการเน่า รากถอดปลอก บางต้นแสดงอาการตายจากยอด (die back) และในต้นที่อาการรุนแรง แสดงอาการตายจากยอด โคนและลำต้นเน่า มีแผลสีดำ ที่มีของเหลวซึมไหลออกมา (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (สวนคุณสมชาย)

- (ก) ลักษณะต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- (ข) โคนและลำต้นทุเรียนเน่า มีแผลสีดำและมีของเหลวซึมไหลออกมา

สวนที่ 2 ตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดจันทบุรี มีพื้นที่ประมาณ 100 ไร่ มีการปลูกทุเรียนประมาณ 800 ต้น ซึ่งในช่วงระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ได้ประสบปัญหาเกี่ยวกับการระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าอย่างต่อเนื่อง ทำให้ต้นทุเรียนตายไปกว่าร้อยละ 50 ของต้นทุเรียนที่ปลูกทั้งหมด ทุเรียนมีอายุตั้งแต่ 10-25 ปี มีการจัดการวัชพืชบริเวณสวนเป็นอย่างดี เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจ ในการตัดแต่งกิ่ง หลังเก็บผลผลิต การบำรุงต้น เป็นอย่างดี แต่เมื่อมีการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าก็พบอาการของโรค เช่นเดียวกับสวนอื่น คือบริเวณลำต้น กิ่งหรือราก บริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของแผล (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดจันทบุรี

- (ก) ลักษณะของต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- (ข) ลักษณะทรงพุ่มต้นทุเรียนที่แสดงอาการปกติแต่เมื่อขุดดูรากพบว่ารากเน่า
- (ค) ลักษณะทรงพุ่มต้นทุเรียนที่เริ่มแสดงอาการตายจากยอด ใบยอดเหลือง เรียวเล็ก
- (ง) บริเวณโคนต้นและลำต้น พบแผลสีน้ำตาลเข้ม ชุ่มน้ำ ซึ่งเป็นอาการที่เรียกว่าเปลือกแตกยางไหล

สวนที่ 3 ตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ต้นทุเรียนอายุประมาณ 5-7 ปี พบอาการของโรครากเน่าโคนเน่ากระจายอยู่ทั่วพื้นที่ โดยต้นที่เริ่มเป็นโรคพบใบไม้สมบูรณ์ ใบเล็กซีด มีสีเขียวอ่อนถึงเหลือง ผิวใบไม่เป็นมัน หากแตกใบอ่อนจะมีขนาดเล็ก หยิกงอ โดยสีของใบจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดและใบร่วง กิ่งแห้งตายโดยเริ่มจากส่วนยอดก่อน เมื่อสำรวจบริเวณลำต้น กิ่งหรือราก บริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของแผล (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอพบพระ จังหวัดตาก

- (ก) ต้นทุเรียนแสดงอาการต้นโทรมแต่ยังคงให้ผลผลิตได้
- (ข) ลำต้นทุเรียนแสดงอาการเปลือกแตกยางไหล

สวนที่ 4 ตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ ลักษณะสวนทุเรียนอุตรดิตถ์ มีการปลูกบนพื้นที่ลาดชัน บนภูเขาสูง การจัดการดูแลค่อนข้างลำบาก เมื่อทำการสำรวจต้นทุเรียนพบว่า บริเวณลำต้น กิ่งหรือราก บริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของแผล พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ร่วมทำลายด้วย เนื่องจากมีความชื้นสูง ทำให้ต้นแสดงอาการของโรครุนแรงมากกว่าเดิม นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถเข้าทำลายในส่วนของผล ทำให้เกิดอาการผลเน่า (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

- (ก) ลักษณะต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- (ข) บริเวณลำต้นทุเรียนพบแผลสีน้ำตาลเข้มคล้ายถูกน้ำร้อนลวกเป็นวง บริเวณรอยแตกของแผลพบเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ร่วมทำลายร่วมกัน
- (ค) ลักษณะผลทุเรียนที่เน่าเนื่องจากถูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. เข้าทำลาย

สวนที่ 5 ตั้งอยู่ในอำเภอยางเชียงรุ้ง จ. เชียงราย พื้นที่ปลูกเป็นบริเวณไหล่เขา มีความชันสูง ดินมีความอุดมสมบูรณ์ด้วยอินทรีวัตถุสูง ส่งผลให้ส่วนใหญ่ต้นมีลักษณะสมบูรณ์ ใบมีขนาดใหญ่ เป็น 2 เท่าเมื่อเทียบกับสวนอื่นๆ ขนาดผลทุเรียนมีน้ำหนักมากกว่า 3 กิโลกรัม เปลือกหนา ไม่มีลักษณะอาการของโรคตายจากยอด แต่เมื่อผู้วิจัยได้ขุดดูดินบริเวณรอบราก ทำให้พบว่า รากแสดงอาการเน่าอย่างรุนแรง มีกลิ่นเหม็น เนื่องจากเกษตรกรไม่มีความรู้ในการปลูกทุเรียน จึงไม่ทราบว่ารากเน่าโคนเน่าของทุเรียนเป็นอย่างไร รวมถึงวิธีการจัดการโรค (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ลักษณะทั่วไปของสวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอยางเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย

- (ก) ลักษณะต้นทุเรียนที่มีลักษณะต้นสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการของโรค die back อีกทั้งยังติดผลจำนวนมาก ผลทุเรียนมีขนาดใหญ่
- (ข) เมื่อขุดดูดินรอบๆโคนต้น พบว่าโคนต้นทุเรียนที่อยู่ระดับผิวดินแสดงอาการเน่า อย่งไหล
- (ค) รากทุเรียนแสดงอาการเน่าเป็นสีน้ำตาลเข้ม รากถอดปลอก มีกลิ่นเหม็น

หลังจากทำการสำรวจโรคในแปลงปลูกทุเรียนแล้ว ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากต้นทุเรียนที่เป็นโรค และตัวอย่างดินบริเวณรอบๆ โคนต้นที่เป็นโรคตลอดจนหากพบอาการที่ใบและผล จึงทำการเก็บมาตรวจแยกเชื้อในขั้นต่อไป สำหรับตัวอย่างดินจะทำการสุ่มเก็บจากบริเวณรอบๆ โคนต้นของทุเรียนที่แสดงอาการ รากเน่าโคนเน่า และต้นทรุดโทรม โดยเก็บตัวอย่างประมาณ 0.5 กิโลกรัม เพื่อนำมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรค รากเน่าโคนเน่า (ภาพที่ 14)

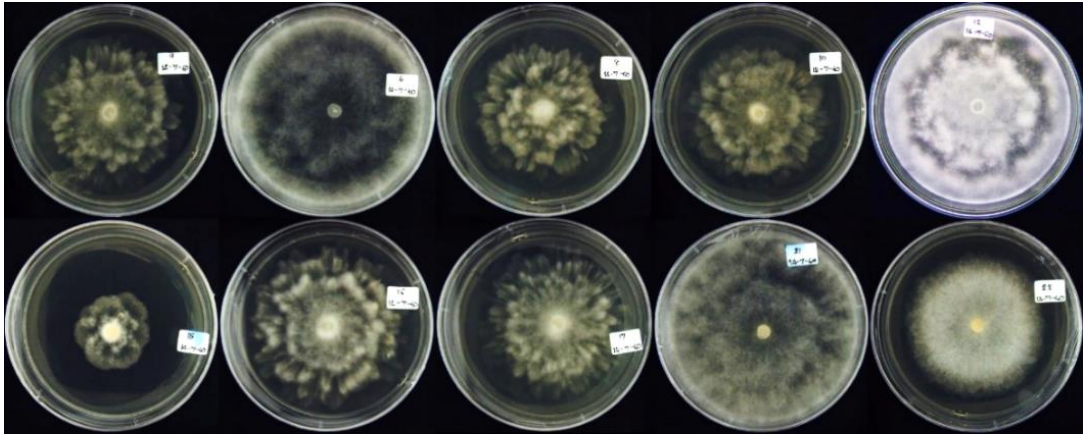


ภาพที่ 14 การเก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณรอบโคนต้น

- (ก) พื้นที่การเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบโคนต้น
- (ข) ลักษณะของรากทุเรียนที่แสดงอาการเน่า โดยรากบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
- (ค) การเก็บตัวอย่างดินและรากพืช เพื่อนำกลับไปทำการเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเก็บใส่ในถุงพลาสติก มัดถุงให้มิดชิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างตัวอย่าง

3.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นทุเรียนที่เกิดอาการรากและโคนเน่า ทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค baiting method โดยการล่อเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างดินรอบรากทุเรียนที่แสดงอาการต้น ทรุด ราก และเปลือกลำต้นทุเรียน พบเชื้อรา *Phytophthora* spp. และ *Pythium* spp. ในจังหวัดจันทบุรี จำนวน 4 ไอโซเลต จังหวัดตาก จำนวน 8 ไอโซเลต และจังหวัดอุดรธานี จำนวน 16 ไอโซเลต รวมจำนวน ทั้งหมด 28 ไอโซเลต (ตารางที่ 2) เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA มีลักษณะการเจริญของเส้นใยหลายแบบ คือ เส้นใยมีการเจริญเป็นโคลนสีขาวเรียบ สีขาวฟู และเส้นใยเจริญซ้อนทับกันคล้ายดอกกุหลาบ สีขาวฟู (ภาพที่ 15) เมื่อตรวจสอบเส้นใยภายใต้กล้อง stereo microscope พบมีการสร้าง chlamydospore รูปร่าง กลมสีน้ำตาล ผนังชั้นเดียว เป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 15 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แยกเลี้ยงจากตัวอย่างดิน ราก และลำต้นของทุเรียนที่แสดงอาการของโรค เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน

ตารางที่ 2 เชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างในแหล่งปลูกทุเรียนของจังหวัดตาก
อุตรดิตถ์และจันทบุรี

รหัส	ตำแหน่งการแยกเชื้อ	ชนิดทุเรียน	แหล่งที่มา
P-01	ดิน	หมอนทอง	พบพระ ตาก
P-02	ดิน		
P-03	ดิน		
P-04	ดิน		
P-05	ดิน		
P-06	ราก		
P-07	ราก		
P-08	เปลือกลำต้น		
P-09	ดิน	หลงลับแล	สวนกำนัน ลับแล อุตรดิตถ์
P-10	ดิน		
P-11	ราก		
P-12	เปลือกลำต้น		
P-13	ดิน	หมอนทอง	ลุ่มดำเนิน ลับแล อุตรดิตถ์
P-14	ดิน		
P-15	ดิน		
P-16	ดิน		
P-17	ราก		
P-18	ราก		
P-19	ดิน	พื้นเมือง	ลุ่มดำเนิน ลับแล อุตรดิตถ์
P-20	เปลือกลำต้น		
P-21	ดิน	หมอนทอง	ท่าใหม่ จันทบุรี
P-22	ดิน		
P-23	ดิน		
P-24	ดิน		
P-25	ราก		
P-26	ราก		
P-27	ราก		
P-28	เปลือกลำต้น		

หมายเหตุ : ได้ทำการแยกเชื้อ *Phytophthora* และ *Pythium* จากตัวอย่างดิน ราก และเปลือกจากตัวอย่างทุเรียนใน
อ. เวียงเชียงรุ้ง จ. เชียงราย ได้จำนวน 7 ไอโซเลท แต่เชื้อมีความตายในเวลาต่อมา จึงไม่นำเสนอในการ
รายงานครั้งนี้

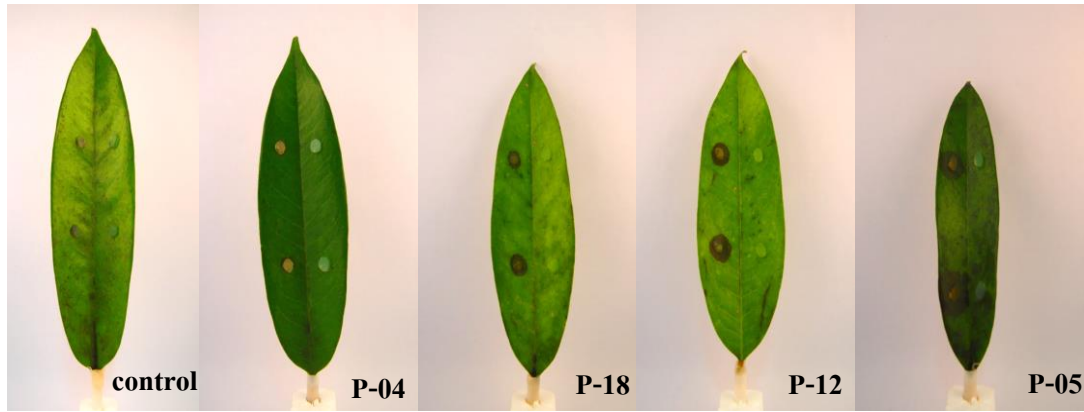
3.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของใบทุเรียน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนใบทุเรียนทั้งหมด 28 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลทเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไม่มีความสามารถในการก่อโรคจำนวน 19 ไอโซเลท และเชื้อราที่มีความสามารถในการก่อโรคจำนวน 9 ไอโซเลท ในระดับความรุนแรงรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกันและพบว่าเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลท P-05 มีความสามารถในการก่อโรคมามากที่สุด โดยมีความรุนแรงในระดับ 4 (ตารางที่ 3) ในระยะแรกจะแสดงลักษณะแผลฉ่ำน้ำรอบแผลบนใบทุเรียนที่ปลูกเชื้อ จากนั้นจะพบอาการแผลที่เป็นรอยไหม้ สีน้ำตาลของแผลขยายขนาดมากขึ้น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแผลมากกว่า 20 มิลลิเมตร เมื่อเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ไม่แสดงการเกิดแผลหลังปลูกเชื้อ 7 วัน (ภาพที่ 16)

การแยกเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนสามารถแยกเชื้อได้หลายวิธี โดยการแยกจากชิ้นพืชที่เป็นโรคโดยตรงหรือใช้เหยื่อล่อในตัวอย่างดินบริเวณรอบต้นทุเรียนที่แสดงอาการโรคม การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ในตัวอย่างที่เก็บมาได้พบว่าสามารถพบเชื้อรา *Phytophthora* spp. ได้ทั่วไป และพบว่าเชื้อราที่แยกได้บางไอโซเลทเท่านั้นที่ก่อโรค เมื่อนำมาทดสอบทดสอบความสามารถในการก่อโรคในห้องปฏิบัติการ ในการทดลองพบว่าเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) มีความสามารถในการก่อโรคโดยแสดงอาการแผลไหม้บนใบทุเรียนที่ทดสอบ ในการทดลองพบว่า การสร้างแผลบนใบทุเรียนก่อนการปลูกเชื้อจะทำให้เกิดอาการของโรคได้ ในขณะที่การปลูกเชื้อโดยไม่ทำแผลก่อนจะไม่แสดงอาการดังที่กล่าว โดยสอดคล้องรายงานของ Pongpisutta และ Sangchote (2004) และ Emer *et al.* (2004) ที่ทำการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Ph. palmivora* และแสดงอาการ โดยการใช้เข็มปลอดเชื้อทำแผลบนใบทุเรียนก่อนการปลูกเชื้อ และรายงานของ Suzui *et al.* (1979) พบว่าเชื้อรา *Ph. palmivora* เป็นสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน

ตารางที่ 3 ระดับความรุนแรงของโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. แต่ละไอโซเลทจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบทุเรียน

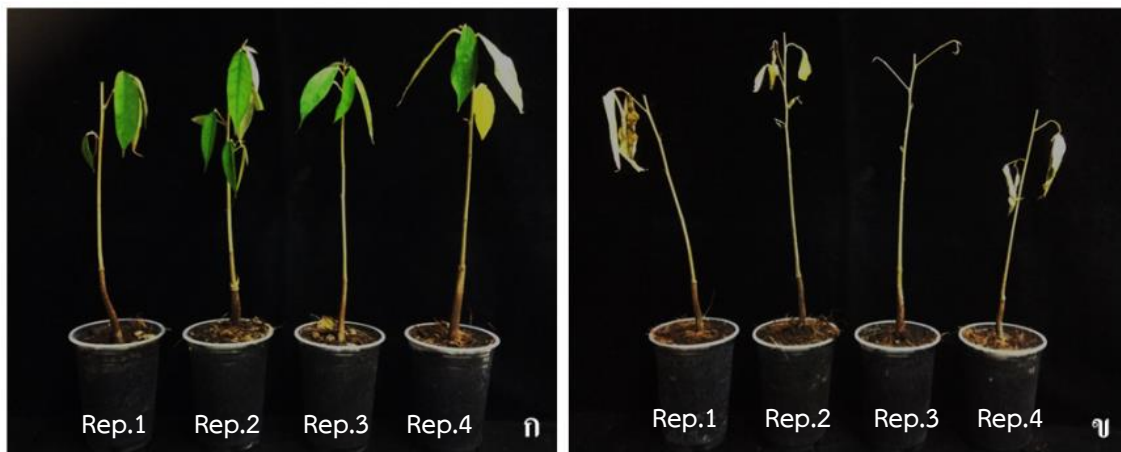
ลำดับที่	ไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท	ระดับความรุนแรงโรค
1	P-01, P-06, P-07, P-08, P-09, P10, P-11, P-13, P-14, P-15, P-16, P-17, P-19, P-21, P-22, P-23, P-25, P-26, P-28	19	0
2	P-04, P-20, P-27	3	1
3	P-18	1	2
4	P-02, P-03, P-12, P-24	4	3
5	P-05	1	4



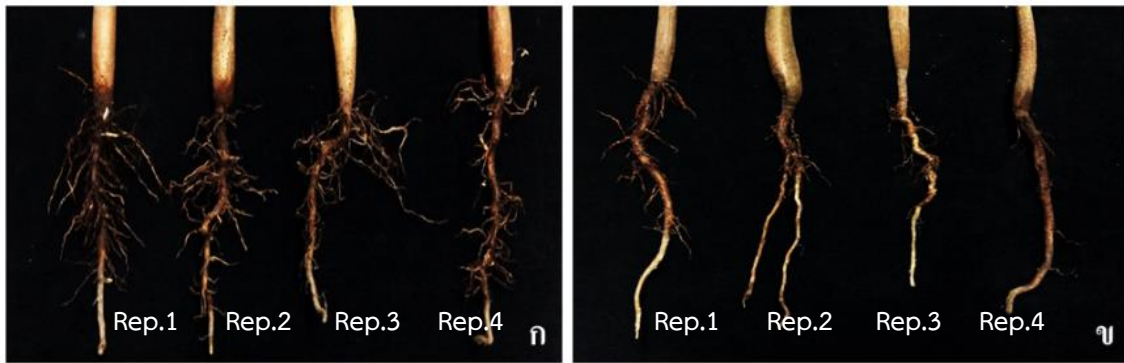
ภาพที่ 16 ระดับความรุนแรงของโรคที่ก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง หลังการปลูกเชื้อด้วยวิธี detached leaf technique เป็นเวลา 7 วัน

3.4 การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับกล้าทุเรียน (seedling test method)

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคนบนใบทุเรียนพบว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) มีความสามารถในการก่อโรครุนแรงที่สุดจึงได้นำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคในต้นกล้าทุเรียนจากการทดลองพบว่า เมื่อทำการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) ลงในกระถางที่ปลูกต้นกล้าทุเรียนไว้ 1 เดือน ต้นกล้าทุเรียนเริ่มแสดงอาการใบสลด สีใบซีดเหลือง ผิวใบไม่มันวาว หลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และแสดงอาการใบร่วง และยอดแห้งตาย (die back) ในเวลาต่อมา และต้นกล้าทุเรียนแห้งตายภายใน 3 สัปดาห์ หลังจากการปลูกเชื้อ จากนั้นทำการตรวจสอบการเจริญของระบบรากต้นกล้าทุเรียนพบว่า รากฝอยของต้นกล้าทุเรียนมีอาการเน่าและเปื่อยยุ่ย ไม่มีการสร้างรากใหม่เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีการเจริญของรากฝอยและมีปริมาณรากฝอยที่มากกว่า (ภาพที่ 17 และ 18) เมื่อประเมินระดับความรุนแรงของโรคตามวิธีของ Chen *et al.* (1987) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค รากของต้นทุเรียนมีความเสียหายและแสดงอาการเน่า มากกว่า 76 % โดยอยู่ในระดับความรุนแรงที่ 4



ภาพที่ 17 อาการของโรครากและโคนเน่าของทุเรียน หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (ก) ชุดควบคุม และ (ข) ชุดทดสอบ

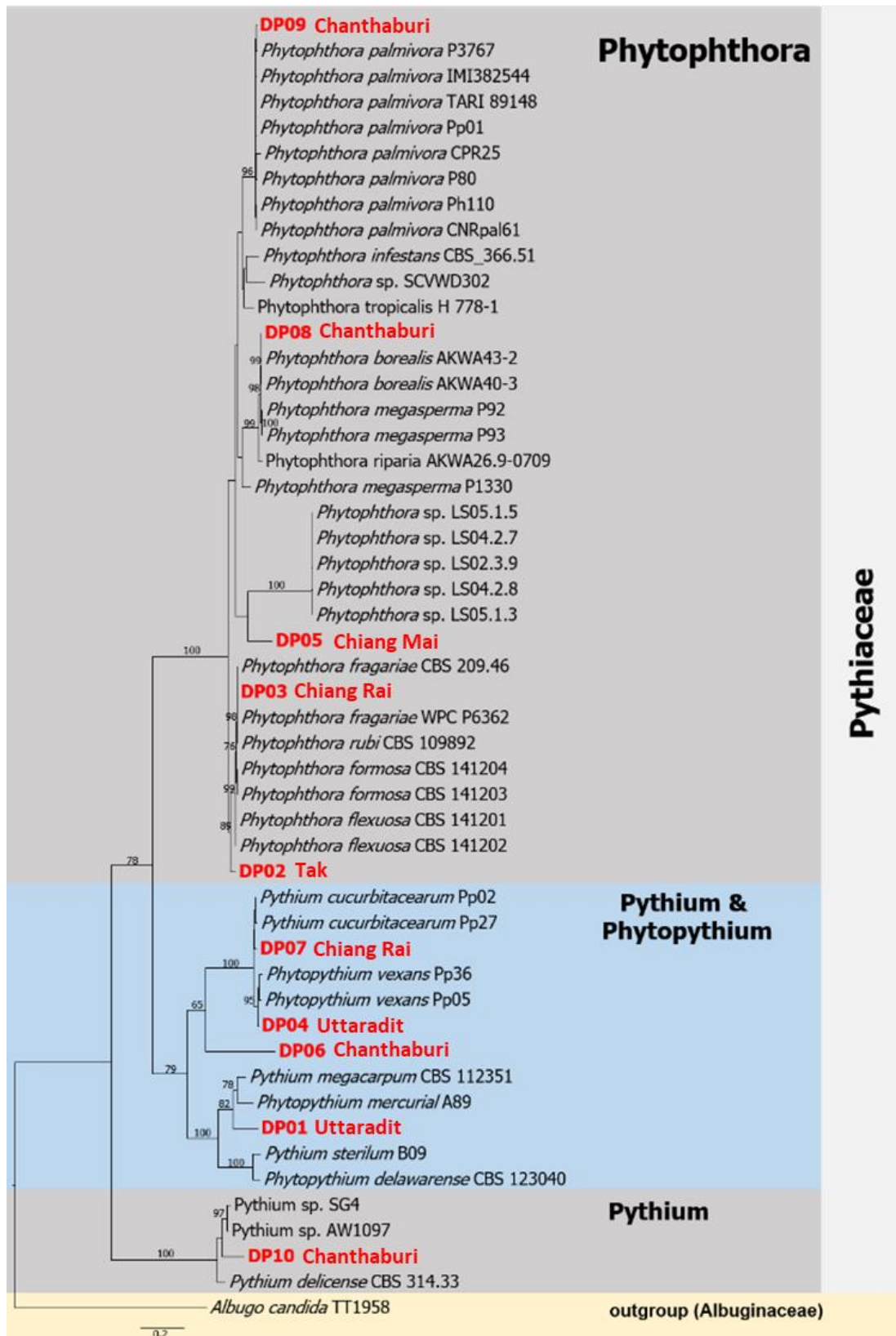


ภาพที่ 18 ลักษณะรากต้นกล้าทุเรียน หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (ก) ชุดควบคุมและ (ข) ชุดทดสอบ

3.5 ศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า จำแนกชนิดด้วยเทคนิคอนุชีววิทยา

จากการออกสำรวจ และเก็บตัวอย่างดินจากสวนทุเรียนที่เข้าร่วมโครงการ จำนวน 10 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* จำนวน 18 ไอโซเลท ซึ่งได้เชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และได้ทำการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับใบทุเรียน พบว่าเชื้อจำนวน 12 ไอโซเลท ที่สามารถก่อความรุนแรงของโรคที่ระดับ 3 ระดับ 2 จำนวน 4 ไอโซเลท ระดับ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท และไม่ก่อโรค จำนวน 10 ไอโซเลท จึงได้คัดเลือกไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่มีระดับความรุนแรงในระดับ 3 จำนวน 10 ไอโซเลท มาทำวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเบื้องต้นพบว่ามี ความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum*, *P. vexans*, *P. delicense*, *Phytophthora cinnamomi* และ *Ph. palmivora*

การศึกษาในครั้งนี้มีเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 10 ไอโซเลท ถูกจัดอยู่ใน 3 กลุ่มคือ DP02 DP03 DP05 DP08 และ DP09 อยู่ในกลุ่ม *Phytophthora* DP01 DP04 DP06 และ DP07 อยู่ในกลุ่ม *Pythium* and *Phytophythium* และ DP10 อยู่ในกลุ่ม *Pythium* โดยทั้งหมดนั้นถูกจัดอยู่ในวงศ์ *Pythiaceae* (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้วิธี Maximum likelihood (ML) ของ Phytophthora-like alignment จาก rDNA sequences ในตำแหน่ง ITS region โดยมี *Albugo candida* เป็น outgroup

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจสวนทุเรียนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ และเก็บตัวอย่างดิน ราก เปลือกไม้เพื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุของโรคจาก 5 สวน ในพื้นที่ อำเภอท่าใหม่ อำเภอเขาคิชฌกูฏ จ. จันทบุรี อำเภอพบพระ จ.ตาก อำเภอลับแล จ.อุตรดิตถ์ และอำเภอ เวียงเชียงรุ้ง จ. เชียงราย พบว่าต้นทุเรียนในทุกสวนแสดงอาการของโรค รากเน่าโคนเน่า แต่แตกต่างกันตามความรุนแรงของโรค โดยพบตั้งแต่ต้นที่มีลักษณะปกติ แต่เมื่อขุดดูบริเวณราก จะพบว่าขนราก (root hair) ถูกทำลาย รากถอดปลอก บางต้น มีอาการตายจากยอด (die back) และ ในต้นที่อาการรุนแรง จะมีทั้ง รากเน่า ตายจากยอด และโคนเน่า มีแผลสีดำ ที่มีน้ำไหลออกมา และเมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุ สามารถแยกเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* จำนวน 28 ไอโซเลท จากตัวอย่างที่เก็บมาทั้งหมด และเมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบน ใบทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าสร้างความรุนแรงของโรคที่ระดับรุนแรงมาก จำนวน 12 ไอโซเลท ระดับ ปานกลาง จำนวน 4 ไอโซเลท ระดับต่ำ จำนวน 2 ไอโซเลท และไม่ทำให้เกิดโรค จำนวน 10 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่มีระดับความรุนแรงในระดับรุนแรงมาก จำนวน 10 ไอโซเลท เลท มาทำวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเบื้องต้นพบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *P. cucurbitacearum*, *P. vexans*, *P. delicense*, *Phytophthora cinnamomi* และ *Ph. palmivora* แสดงให้เห็นว่าสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทยมีมากกว่าหนึ่งชนิด โดยก่อนหน้านี้มีการรายงานเพียง *Phytophthora palmivora* ชนิดเดียวเท่านั้น โดยวิธีการศึกษาสาเหตุของโรคในโครงการนี้ มีความแม่นยำสูง สามารถใช้เป็นวิธีการตรวจสอบสาเหตุของโรคได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคในกลุ่มนี้ในเชิงลึกมากขึ้น เพื่อเข้าใจถึงการกระจายตัวของเชื้อสาเหตุ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อและต้นพืช เพื่อนำไปสู่การวางแผนป้องกันกำจัดในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทยต่อไป

บทที่ 4

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในห้องปฏิบัติการ

การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เพื่อใช้ในการควบคุมสาเหตุโรคพืช เป็นการเอาเชื้อปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินมายับยั้งโรค หรือได้จากพืช นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคพืชเป้าหมายในสภาพห้องทดลอง โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ และเชื้อโรคพืชรวมกันในอาหารเลี้ยง เพื่อศึกษาปฏิกริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค ซึ่งถ้ามีการยับยั้งเกิดขึ้น จะเห็นบริเวณใส (clear zone) ระหว่างเชื้อโรคพืชกับเชื้อที่คัดเลือก แสดงว่า การยับยั้งเกิดขึ้น และสามารถศึกษากลไกการยับยั้งแบบใด เช่น การทำลายชีวิต หรือการเป็นปรสิต ถ้าเป็นการทำลายชีวิตจะมีการผลิตสารปฏิชีวนะออกมาทำลายหรือถ้าเป็นปรสิตจะพบว่า เชื้อปฏิปักษ์มีการทำลายภายในของเชื้อโรคพืช ทำให้เซลล์ตาย หากเป็นการแข่งขันจะมีการผลิตสารที่ทำให้เชื้อโรคพืชเจริญเติบโตช้าลง หรือตายในที่สุด เมื่อคัดเลือกได้เชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี ในการยับยั้งเชื้อโรคพืชแล้ว ก็นำไปศึกษาทดสอบการยับยั้งการเกิดโรคในสภาพโรงเรือนหรือแปลงปลูกพืชทดลองต่อไป

4.1 สํารวจและแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดิน

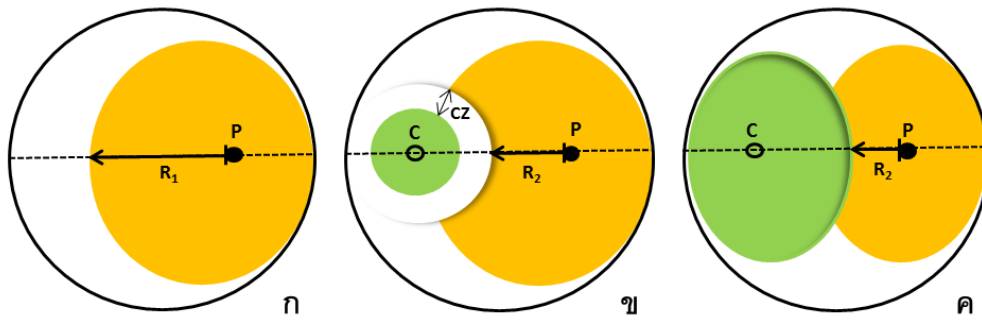
สำรวจและเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้จากดินในพื้นที่ 3 จังหวัด คือ ปทุมธานี แพร่ และเชียงใหม่ (อ.ไชยปราการ) และผลิตภัณฑ์ของอาจารย์เกษม สร้อยทอง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ จากนั้นทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค soil baiting method นำตัวอย่างดินและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ปริมาณ 10 - 20 กรัม ใส่ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ และใช้ฟางข้าวที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาวางบนตัวอย่างดินและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 - 14 วัน เมื่อพบเชื้อรา *Chaetomium* spp. สร้างสปอร์ออกมาจาก perithecium ในขั้นตอนต่อไปจะใช้เทคนิค single spore isolation (Choi *et al.* 1999) ในการแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ให้บริสุทธิ์ โดยใช้เข็มเย็บเย็บย้ายสปอร์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ลงในน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตรและหยดน้ำกลั่นลงบนผิวอาหารวุ้น WA ปริมาณ 0.3 - 0.5 มิลลิลิตร ทำการกระจายเชื้อให้ทั่วบริเวณผิวน้ำอาหารวุ้น WA นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ปลายเข็มเย็บเย็บเชื้อตัดชิ้นวุ้นที่มีการงอกของสปอร์เดี่ยว เชื้อรา *Chaetomium* spp. ภายใต้กล้อง stereo microscope นำชิ้นวุ้นที่ได้วางบนอาหาร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน และทำการเก็บรักษาเชื้อราบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราที่มีคุณสมบัติความเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากการสำรวจมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาทำการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุของโรครากเน่าทุเรียน นำเชื้อรา *Chaetomium* spp. และเชื้อสาเหตุโรคมาล้างบนจานอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ทำการตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราโดย

เลือกบริเวณปลายเส้นใยและใช้เข็มเย็บเชื้อย้ายชิ้นส่วนของเชื้อรา *Chaetomium* spp. และเชื้อราสาเหตุของโรคมาวางบนอาหาร PDA ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร โดยวางชิ้นงู้นให้มีระยะห่างระหว่างเชื้อรา *Chaetomium* spp. และเชื้อราสาเหตุโรค ยาว 45 มิลลิเมตร ทำการทดลอง ไอโซเลทละ 4 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมทำการวางเชื้อราสาเหตุโรคร่วมกับชิ้นงู้นเปล่า บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นบันทึกการเจริญเติบโตของรัศมีเชื้อราสาเหตุโรคเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 การวัดผลการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค (P) โดยเชื้อราปฏิปักษ์ (C); (ก) ชุดควบคุม, (ข) ชุดทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่สร้างสารทุติยภูมิในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค, (ค) ชุดทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่แสดงกลไกการแข่งขันการเจริญเติบโต, (R1) รัศมีของเชื้อสาเหตุโรคในชุดควบคุม, (R2) รัศมีของเชื้อราปฏิปักษ์ในชุดทดลอง และ(CZ) เคลียร์โซนหรือวงใส

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth-PIRG) คำนวณได้ดังนี้

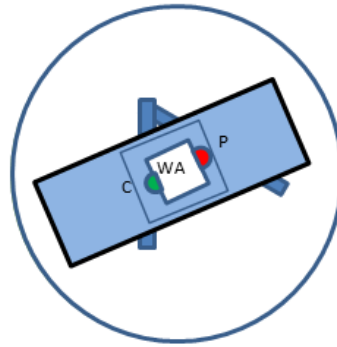
$$PIRG = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100$$

เมื่อ R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อในจานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อในจานทดสอบ

4.3 การศึกษาการเข้าทำลายเชื้อรา *Phytophthora* spp. ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยวิธี slide culture method ดัดแปลงจาก เกวลิน (2556)

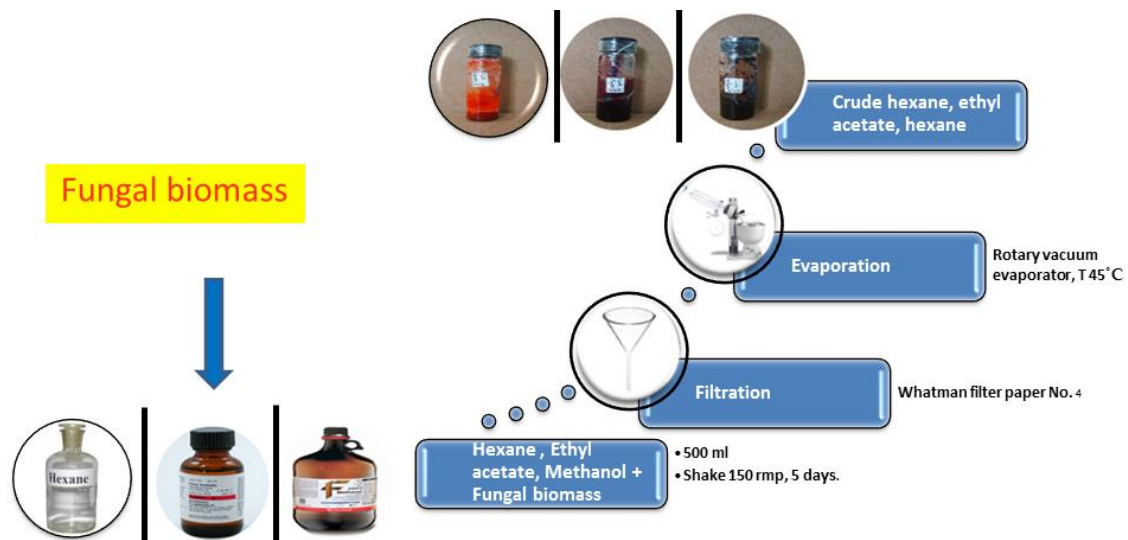
เตรียมกระดาดชกรอง แห้งแก้วรูปตัววี microscope slide และ cover glass ใส่ลงใน petri dish นึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นตัดชิ้นงู้น PDA ขนาด 5 × 5 มิลลิเมตร มาวางตรงกลางของ slide นำเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์มาวางบนชิ้นงู้นโดยให้อยู่ตำแหน่งตรงข้ามกับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากนั้นปิดทับด้วย cover glass บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน (ภาพที่ 21) นำ cover glass วางบน micro slide ใหม่โดยใช้ lactophenol เป็นสารค้ำจุน (mounting media) นำไปตรวจดูภายใต้กล้อง compound microscope เพื่อดูกลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่า และบันทึกภาพผลการทดลอง



ภาพที่ 21 ไดอะแกรมแสดงวิธี slide culture, (P) เชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าทุเรียน, (C) เชื้อรา *Chaetomium* spp.

4.4 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) จากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) เป็นเวลา 4 สัปดาห์จากนั้นนำมากรองเอา Fungal biomass ซึ่งน้ำหนักสดและตากแห้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมงซึ่งน้ำหนักแห้งนำ fungal biomass แห้งไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Blender แล้วนำไปแช่ด้วยตัวทำละลาย Hexane (500 ml) ในปริมาตร 1:1 (v/v) เป็นเวลา 5 วันนำไปกรองด้วย Whatman filter paper No.4 ได้สารกรอง (culture filtrate) นำ culture filtrate แยกตัวทำละลาย (solvent) โดยใช้เครื่อง Rotary vacuum evaporator จะแยกได้ส่วน crude hexane ซึ่งน้ำหนักที่ได้และเก็บไว้ทดลองต่อไปส่วนกาก (marc) ที่ได้จากการกรองนำไปสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้น คือ Ethyl Acetate (EtOAc) และ Methanol (MeOH) ตามลำดับ (ภาพที่ 22) จะได้ crude EtOAc และ MeOH เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 22 แผนผังแสดงการสกัดสารอินทรีย์จากเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยสารละลาย Hexane EtOAc และ MeOH ตามวิธีของ Kanokmedhakul *et al.* (2006)

4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) จากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

นำ crude extracts ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp. มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน โดยใช้ 2% DMSO (Dimethylsulfoxide) เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารทำการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ

ชนิดของสารสกัด มีดังนี้

A1 = สารสกัดจาก Hexane

A2 = สารสกัดจาก Ethyl acetate

A3 = สารสกัดจาก Methanol

ระดับความเข้มข้นของสารสกัดซึ่งแบ่งเป็น 6 ระดับดังนี้ (ภาพที่ 23)

B1 = ความเข้มข้น 0 mg/L

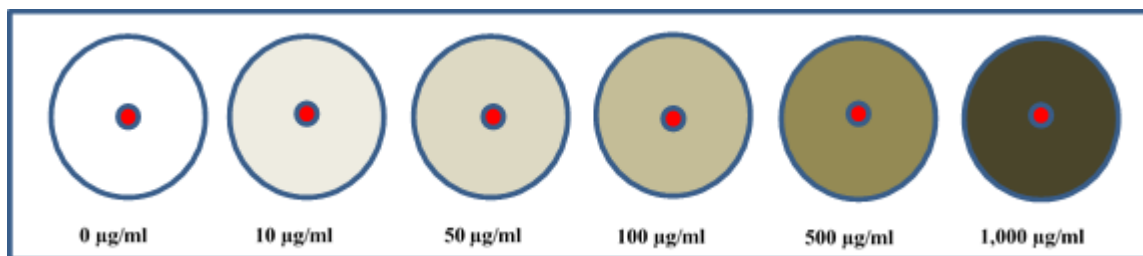
B2 = ความเข้มข้น 10 mg/L

B3 = ความเข้มข้น 50 mg/L

B4 = ความเข้มข้น 100 mg/L

B5 = ความเข้มข้น 500 mg/L

B6 = ความเข้มข้น 1000 mg/L



ภาพที่ 23 โตอะแกรมแสดงการวางตำแหน่งของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบในความเข้มข้นต่างๆ

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน *Phytophthora* spp. โดยการนำอาหาร Broken Rice Agar (BRA) ไปผสมกับสารสกัดหยาบ Hexane, Ethyl acetate และ Methanol ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายสารสกัดหยาบกับ 2% DMSO (Dimethylsulfoxide) จากนั้นให้นำขวดอาหาร BRA ที่ผสมสารสกัดหยาบ (Crude extracts) ไปนึ่งฆ่าเชื้อใน Autoclave ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่อายุ 5 วัน นับสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างโคโลนีและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ (GI) = $(R1-R2)/R1 \times 100$

กำหนด R1= เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (หรือจำนวนสปอร์) ของเชื้อ *Phytophthora* spp. ที่ 0 ml/L

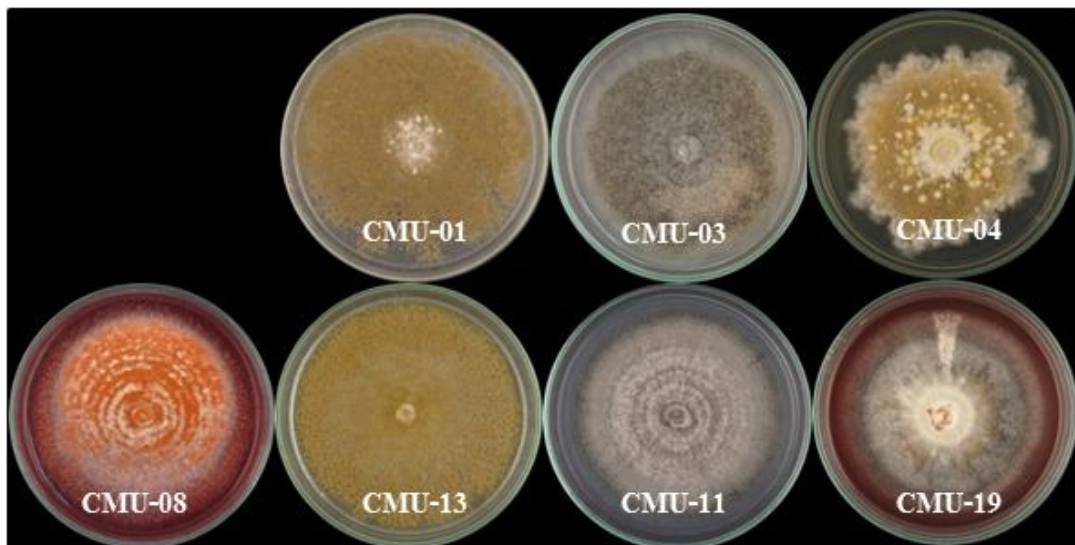
R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (หรือจำนวนสปอร์) ของเชื้อ *Phytophthora* spp. ในแต่ละความเข้มข้น

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเปรียบเทียบ treatment mean ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$ และ คำนวณค่า ED_{50} (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 50 %)

ผลการทดลอง

4.1 สํารวจและแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยาที่ได้จากดิน

จากการสำรวจและแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ด้วยเทคนิค single spore isolation สามารถรวบรวมเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในจังหวัดแพร่ 3 ไอโซเลท จังหวัดเชียงใหม่ 14 ไอโซเลท และจังหวัดปทุมธานี 2 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 19 ไอโซเลท โดยพบเชื้อราบนเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรคือ แกลบดิบ ฟางข้าว กะลากาแฟ กล้วยาคา ใบปาล์ม และกิ่งกุหลาบ (ตารางที่ 4) เมื่อนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 1 เดือน พบเชื้อราสร้างโคโลนีและ perithecium แตกต่างกันและทำให้สีของอาหาร PDA เปลี่ยนไปจากเดิมซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อรา *Chaetomium* spp. แต่ละไอโซเลท (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ตัวอย่างลักษณะของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่แยกได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

การสำรวจเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถพบบนเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว แกลบดิบ กล้วยาคา ใบปาล์ม และกะลากาแฟ โดยวัสดุทางการเกษตรเหล่านี้มีองค์ประกอบของผนังเซลล์เป็นเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ซึ่งเป็นแหล่งอาหารและเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium* spp. และพบว่าเชื้อราชนิดนี้เจริญบนเศษวัสดุพืชที่เป็นใบเลี้ยงเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่ สอดคล้องกับรายงานของ von Arx et al. (1986) ที่ว่า เชื้อรา *Chaetomium* spp. เป็นเชื้อราที่มีมากกว่า 300 ชนิด ที่อาศัยทั่วไปในเศษซากพืชที่มีเซลลูโลสสูง

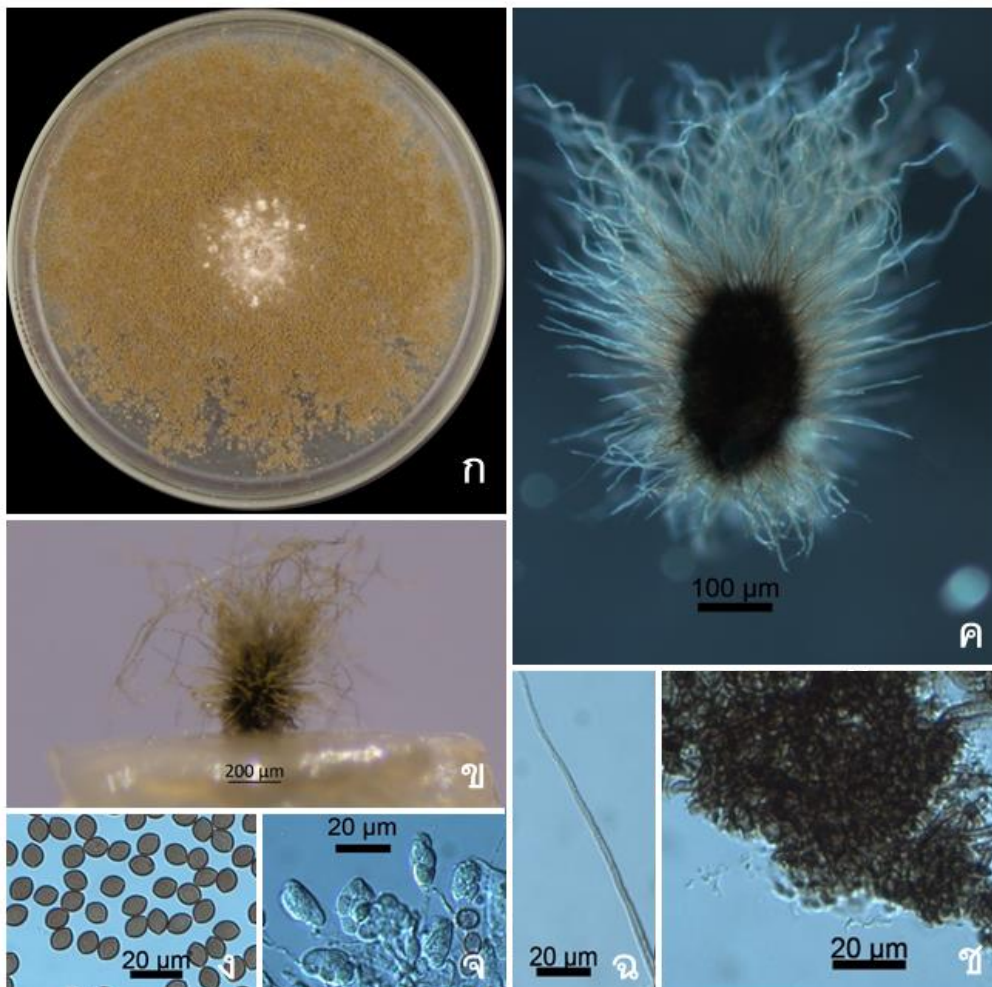
ตารางที่ 4 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ที่แยกได้จากสถานที่ต่างๆ

รหัส	วัสดุทางการเกษตร	แหล่งที่มา
CMU-01	ฟางข้าว	สวนลุงเวท จ.แพร่
CMU-02	เกลบดิบ	สวนณัฐพร จ.แพร่
CMU-03		สวนลุงสิน จ.แพร่
CMU-04	กะลากาแฟ	โรงกาแฟ คณะเกษตรศาสตร์ มช.
CMU-05	หญ้าคา	ฟาร์มวังคำ อ. สันป่าตอง จ. เชียงใหม่
CMU-06	ปาล์ม	ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ จ. เชียงใหม่
CMU-07		
CMU-08	เกลบดิบ	คลินิกโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มช.
CMU-09		
CMU-10	ต้นกุหลาบ	
CMU-11	เกลบดิบ	สวนเรวัฒน์ อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่
CMU-12		
CMU-13		
CMU-14		
CMU-15	ฟางข้าว	บ้านปางควาย อ. ไชยปราการ จ. เชียงใหม่
CMU-16	เกลบดิบ	สวนส้มปางเสี้ยว อ.ไชยปราการ จ. เชียงใหม่
CMU-17		ศูนย์วิจัยข้าว คลอง 6 เขตรังสิต จ. ปทุมธานี
CMU-18		
CMU-19		ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ จ. เชียงใหม่

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-01)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20 วัน พบว่า ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีการสร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เส้นใยมีการเจริญเติบโตเต็มจานอาหารภายในเวลา 10 วัน โคโลนีขอบไม่สม่ำเสมอ และเริ่มสร้าง perithecium รูปร่างรีกลม ขนาด 260 - 310 × 160 - 180 ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) มี terminal hair ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย เส้นยาว มีผนังกันเซลล์ ขนาด lateral hairs มีสีเขียวมะกอก ขนาดกว้าง 2.5 ไมโครเมตร มีผนังกันเซลล์ asci มีการเรียงตัวเป็นรูปกระบองผิวนาง สร้าง 8 ascospore/ascus และมี ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape ขนาด 10 × 7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 25)

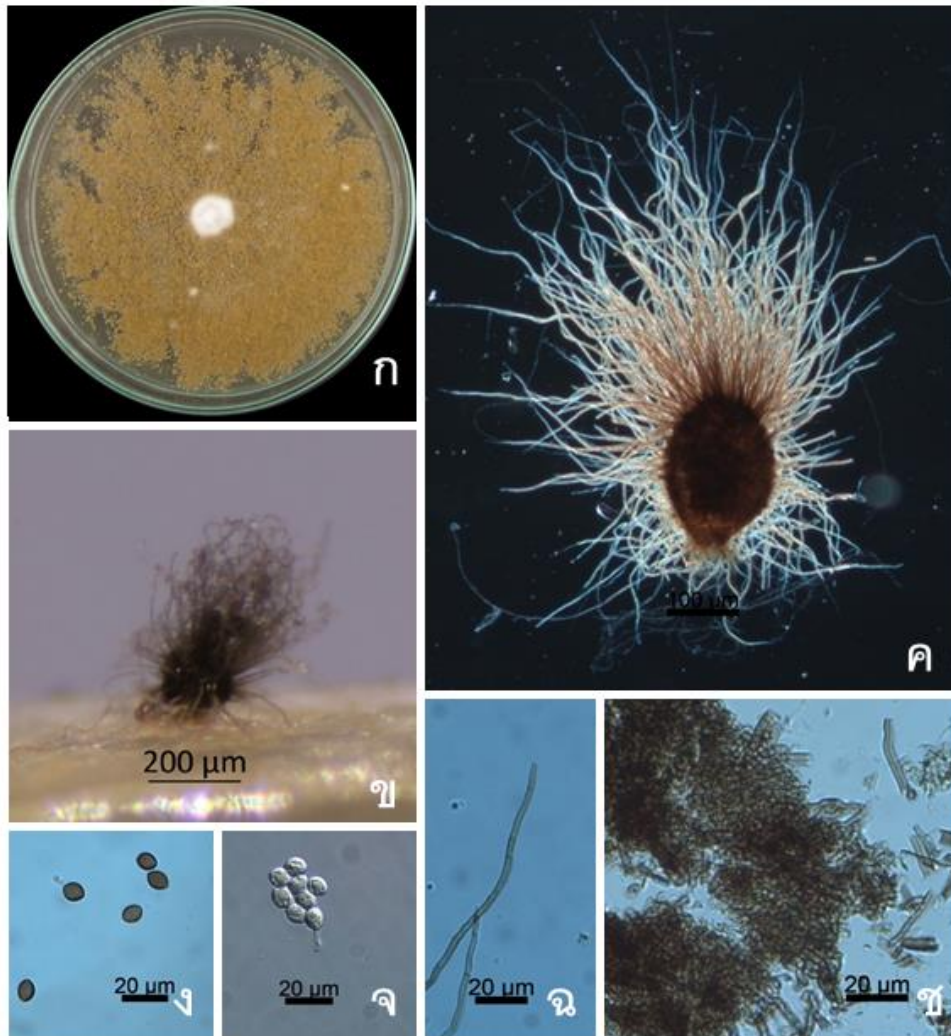


ภาพที่ 25 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-01); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA , (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ) ascus, (ฉ) ascomatal hair และ (ช) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-02)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคโลนีขอบไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $250 - 270 \times 150 - 180$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยว เล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และมี ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 26)

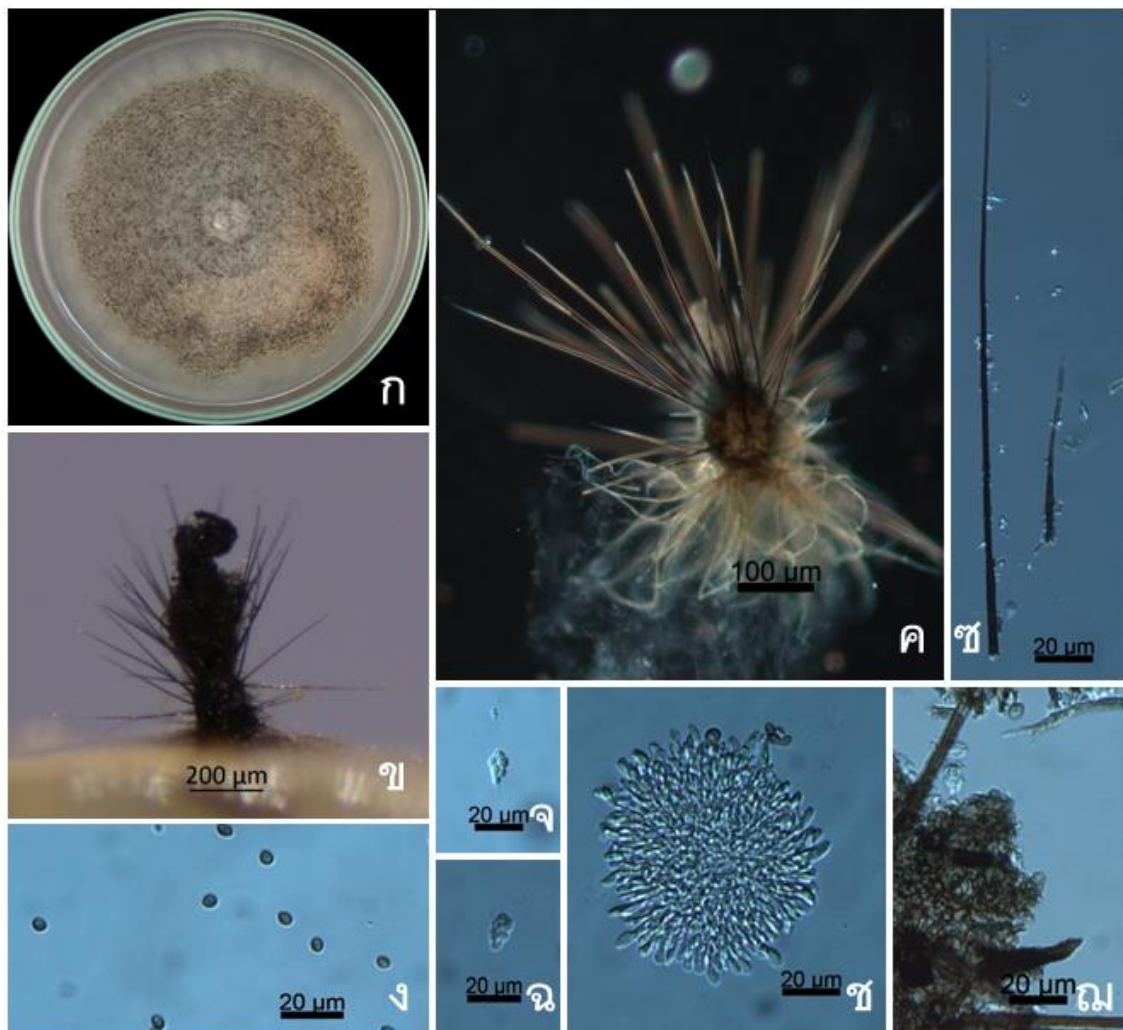


ภาพที่ 26 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-02); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ) ascus, (ฉ) ascomatal hair และ (ช) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium funicola* (CMU-03)

Chaetomium funicola Cooke, Grevillea 1 (11): 176 (1873)

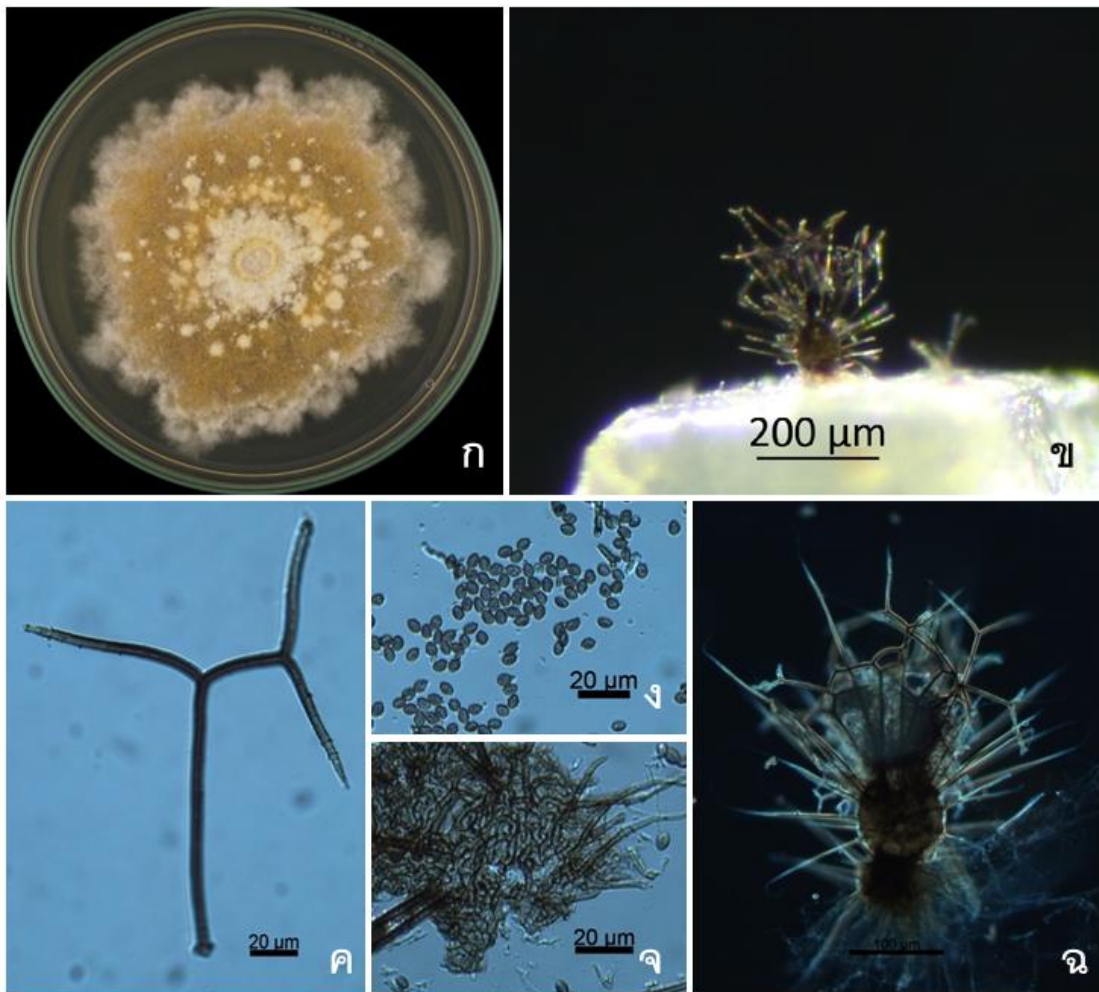
บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคลนียังไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน perithecia รูปร่างกลม สีดำ ขนาด $130 - 150 \times 110 - 140$ ไมโครเมตร พบ ostiole มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 15 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายตรงแหลม ยาว สีน้ำตาลเข้ม มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีน้ำตาลเข้ม คล้ายปลายเข็ม ไม่คดงอ มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบองผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และมี ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง ovate หรือ ellipsoid มีขนาด $5 \times 2.5 - 3.75$ ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 เชื้อรา *Chaetomium funicola* (CMU-03); (ก) โคลนียังบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ-ฉ) ascus, (ช) ascomatal hair และ (ฉ) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium indicum* (CMU-04)*Chaetomium indicum* Corda, Icon. Fung., 4: 38 (1840)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีเหลือง โคลนียุบเรียบ สร้าง pigment สีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างกลมรี สีน้ำตาลเข้ม ขนาด $80 - 140 \times 90 - 120$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายแหลม แตกเป็นแฉก ผิวขรุขระ สีน้ำตาลเข้ม มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีน้ำตาลเข้ม ยาวตรงไม่คดงอ มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง ovate มีขนาด $5 - 6.25 \times 3.75 - 5$ ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 28)

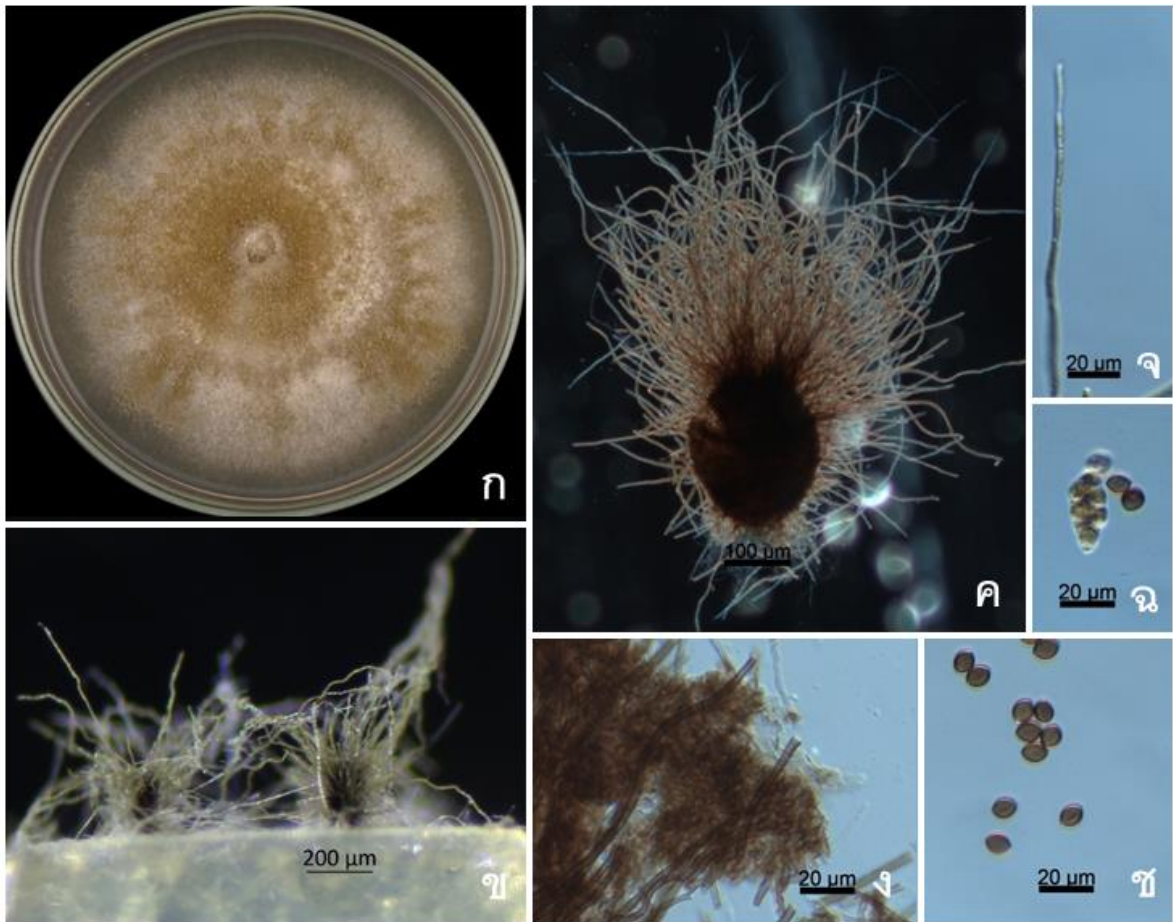


ภาพที่ 28 เชื้อรา *Chaetomium indicum* (CMU-04); (ก) โคลนียุบบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) ascomatal hair, (ง) ascospore, (จ) ascomatal wall, และ (ฉ) perithecium (compound microscope)

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-05)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคโลนีขอบไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $260 - 310 \times 160 - 180$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 29)

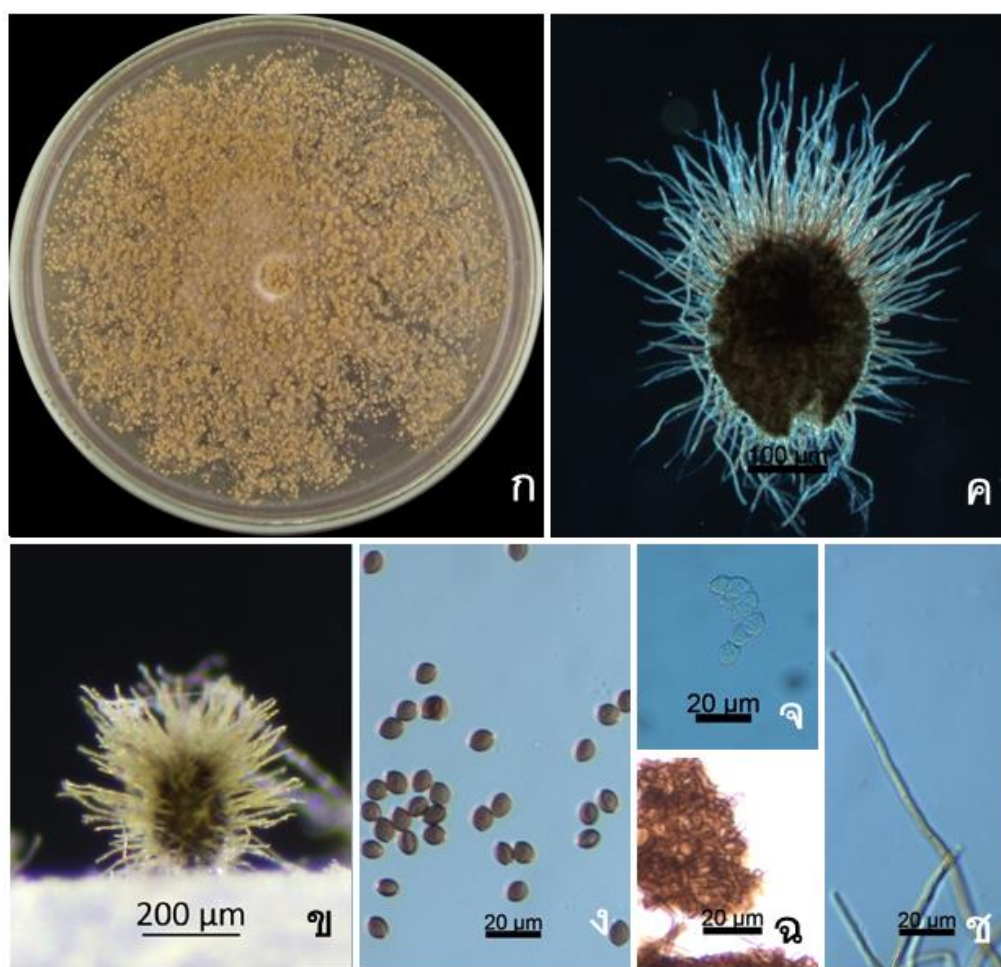


ภาพที่ 29 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-05); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascomatal wall, (จ) ascomatal hair, (ฉ) ascus และ (ช) ascospore

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-06)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $240 - 250 \times 160 - 200$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) มี terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด $8.5 - 10 \times 7.5 - 8.75$ ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 30)

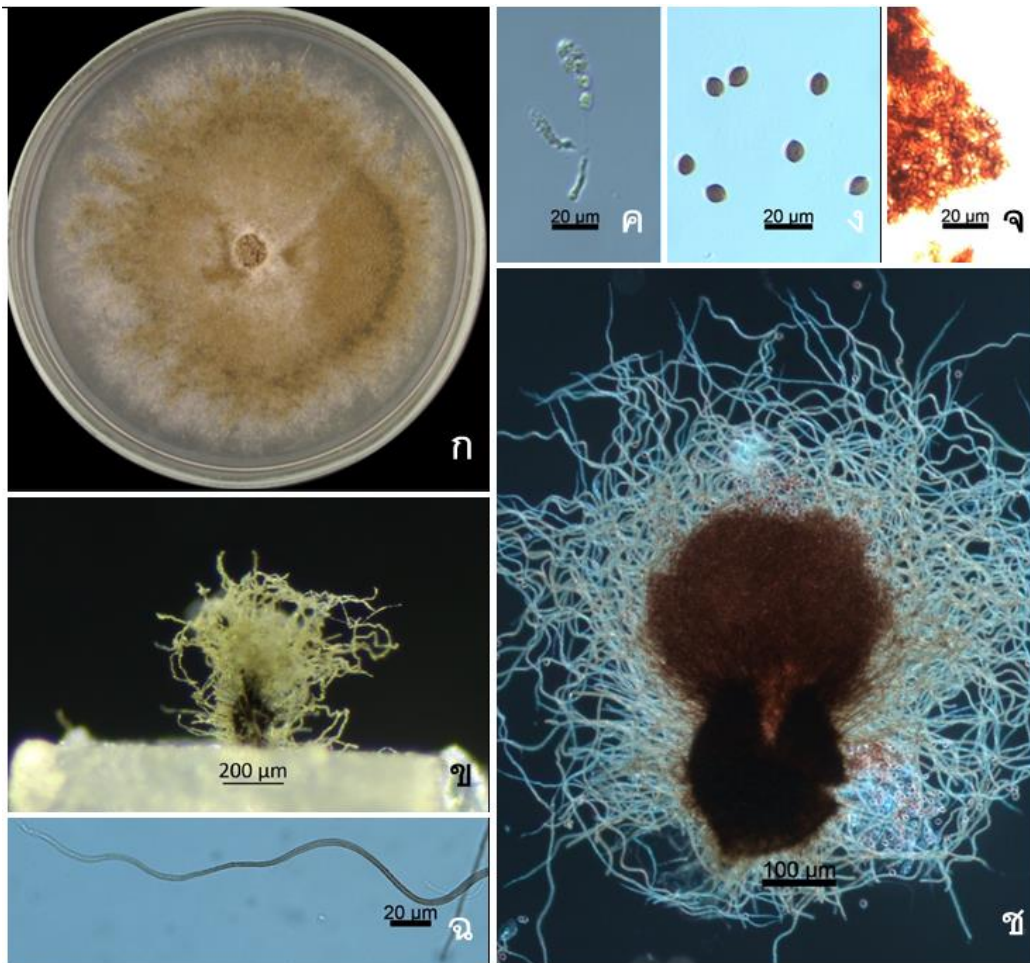


ภาพที่ 30 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-06); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA , (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ) ascus, (ฉ) ascomatal wall และ (ช) ascomatal hair

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-07)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

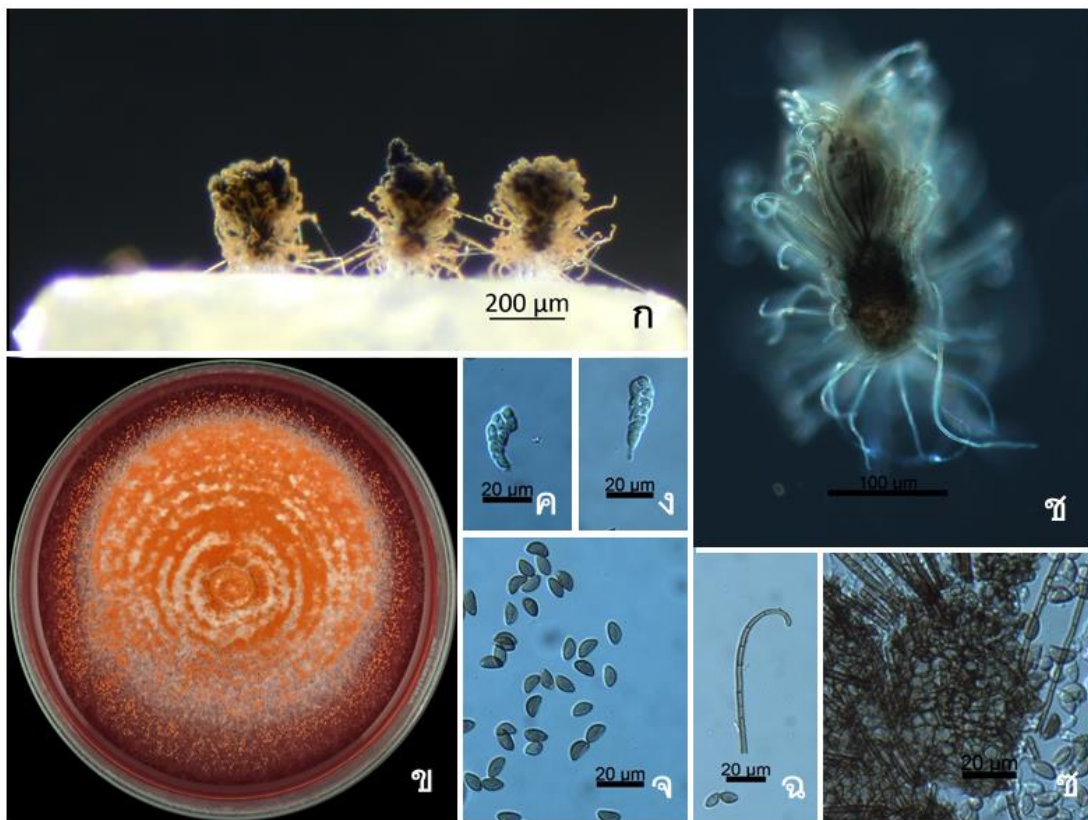
บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคลนขอบไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด 220 - 230 × 170 - 210 ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10 × 7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-07); (ก) โคลนบนอาหาร PDA, (ข) perithecialium (stereo microscope), (ค) ascus, (ง) ascospore, (จ) ascomatal wall, (ฉ) ascomatal hair และ (ช) perithecialium (compound microscope)

เชื้อรา *Chaetomium cupreum* (CMU-08)*Chaetomium cupreum* Ames. Mycologia 41(6): 642 (1950)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคลนีย่อยเรียบ สร้าง pigment สีแดง บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีน้ำตาลเข้ม ขนาด 110 - 140 × 90 - 110 ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis (hyphae polygonal in cross section) พบ terminal hairs ลักษณะเป็นคันศร ปลายมน สีสด มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีสด ปลายโค้งงอเล็กน้อย มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 - 3.75 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบองผิวนาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม รูปร่างแบบ reniform, lunate หรือ fusiform มีขนาด 10 × 5 ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 32)

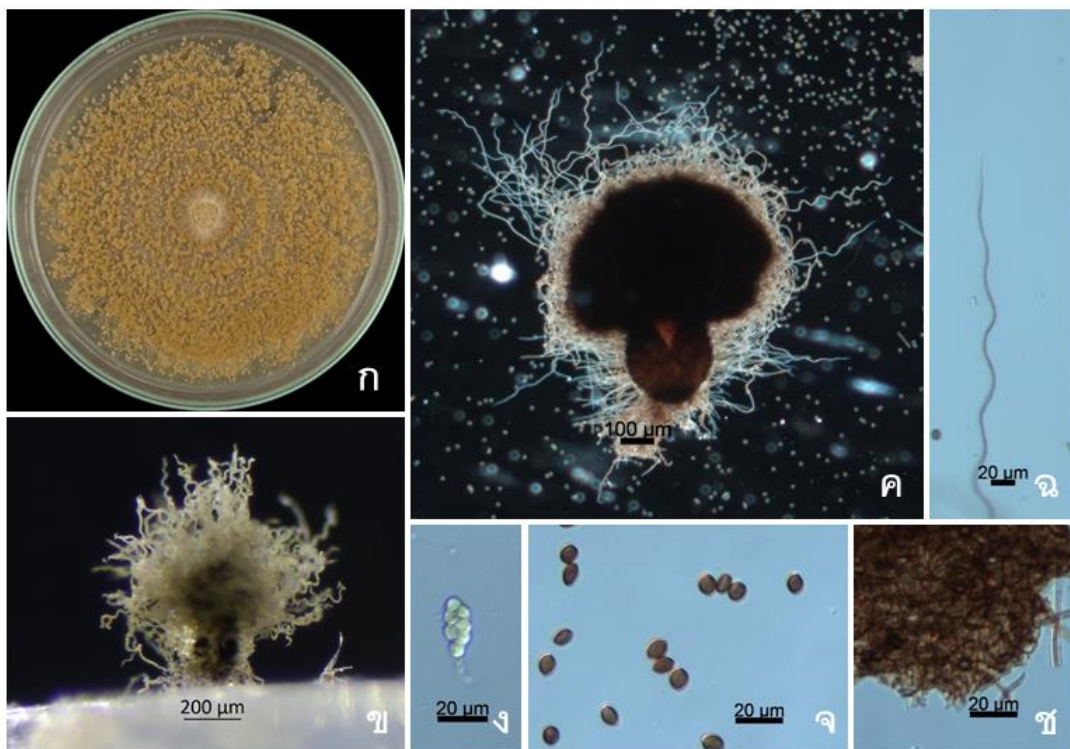


ภาพที่ 32 เชื้อรา *Chaetomium cupreum* (CMU-08); (ก) perithecium (stereo microscope), (ข) โคลนีย่อยบนอาหาร PDA, (ค - ง) ascus, (จ) ascospore, (ฉ) ascomatal hair, (ช) perithecium (compound microscope) และ (ซ) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-09)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง pigment สีชมพูอ่อน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน perithecia รูปร่างกลมรี สีเขียวมะกอก ขนาด $200 - 250 \times 110 - 140$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 33)

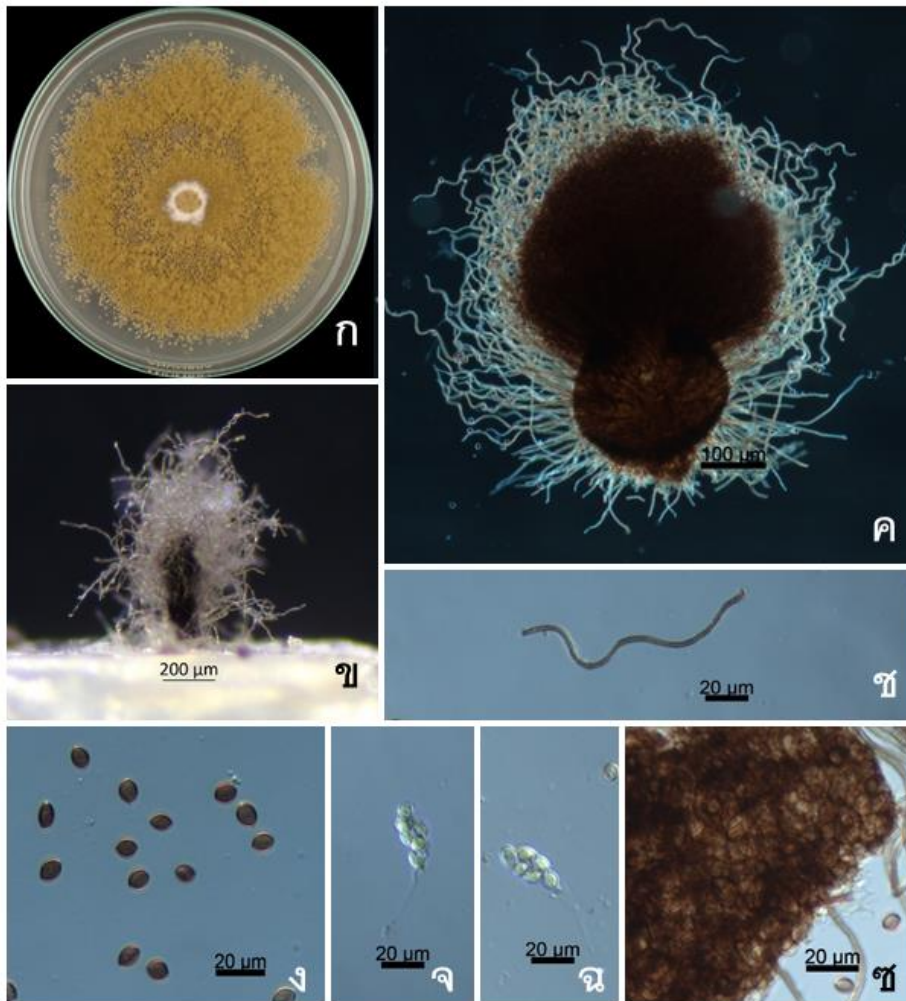


ภาพที่ 33 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-09); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascus, (จ) ascospore, (ฉ) ascomatal hair และ (ช) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-10)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1817)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด 250×240 ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 34)

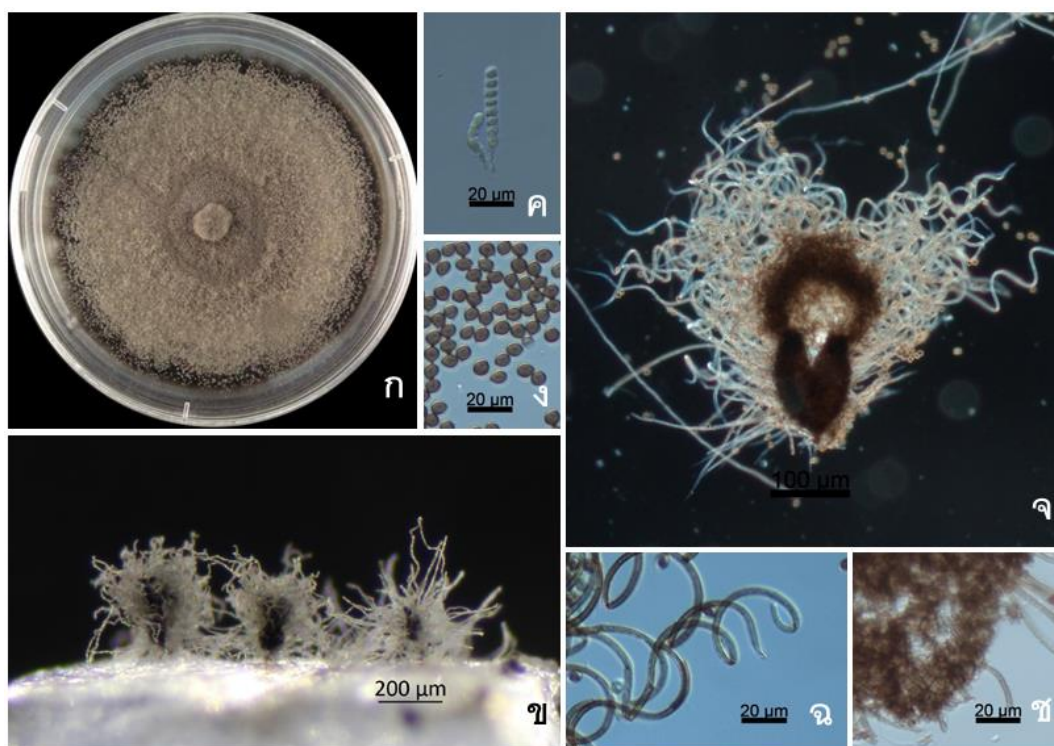


ภาพที่ 34 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-10); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ – ฉ) ascus, (ช) ascomatal hair และ (ซ) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-11)

Chaetomium brasiliense Batista et Pontual, in Bol. Sec. Agr. Ind. Com., Pernambuco, 15: 69 (1948)

บนอาหาร PDA เส้นใยสีขาวปนเทา ขอบโคโลนีไม่เรียบ พู ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 20 วัน perithecia รูปร่างค่อนข้างกลม ดำ ขนาด $120 - 150 \times 100 - 140$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 30 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis ((hyphae polygonal in cross section) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายม้วนกลับคล้ายสปริง สีเทา มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเทา ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอกท่ายมน ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปไข่ มีขนาด 7.5×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 35)

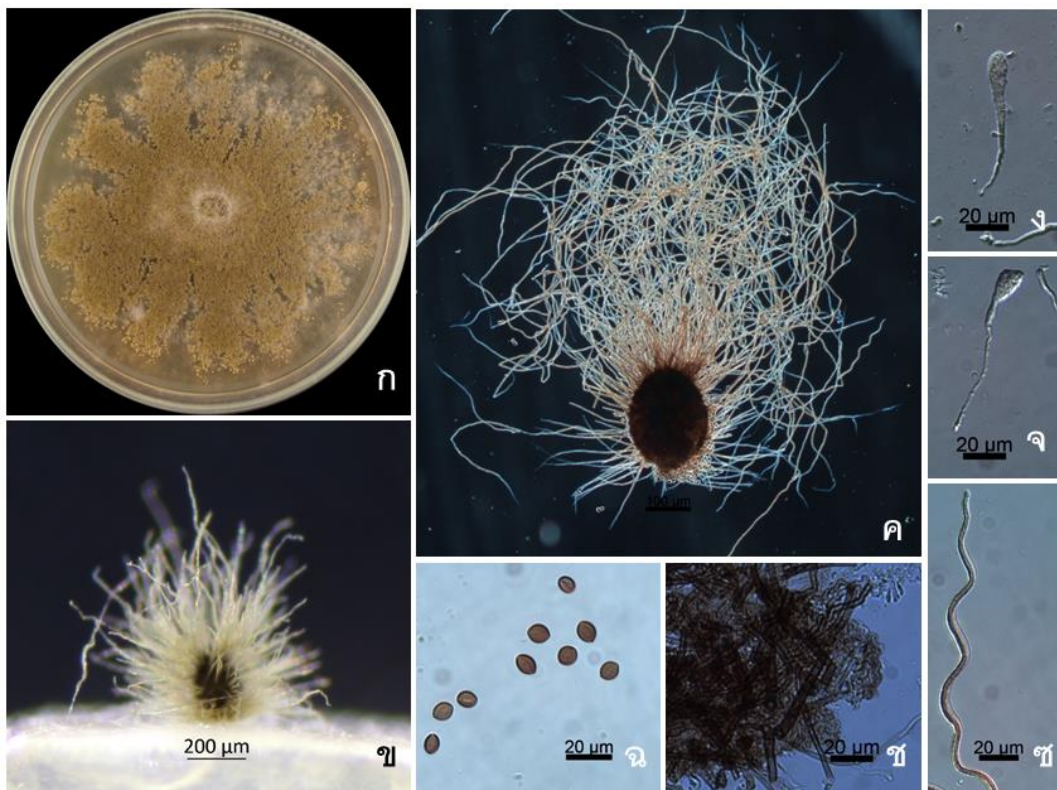


ภาพที่ 35 เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-11); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ) ascus, (ฉ) ascomatal hair และ (ข) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-12)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1829)

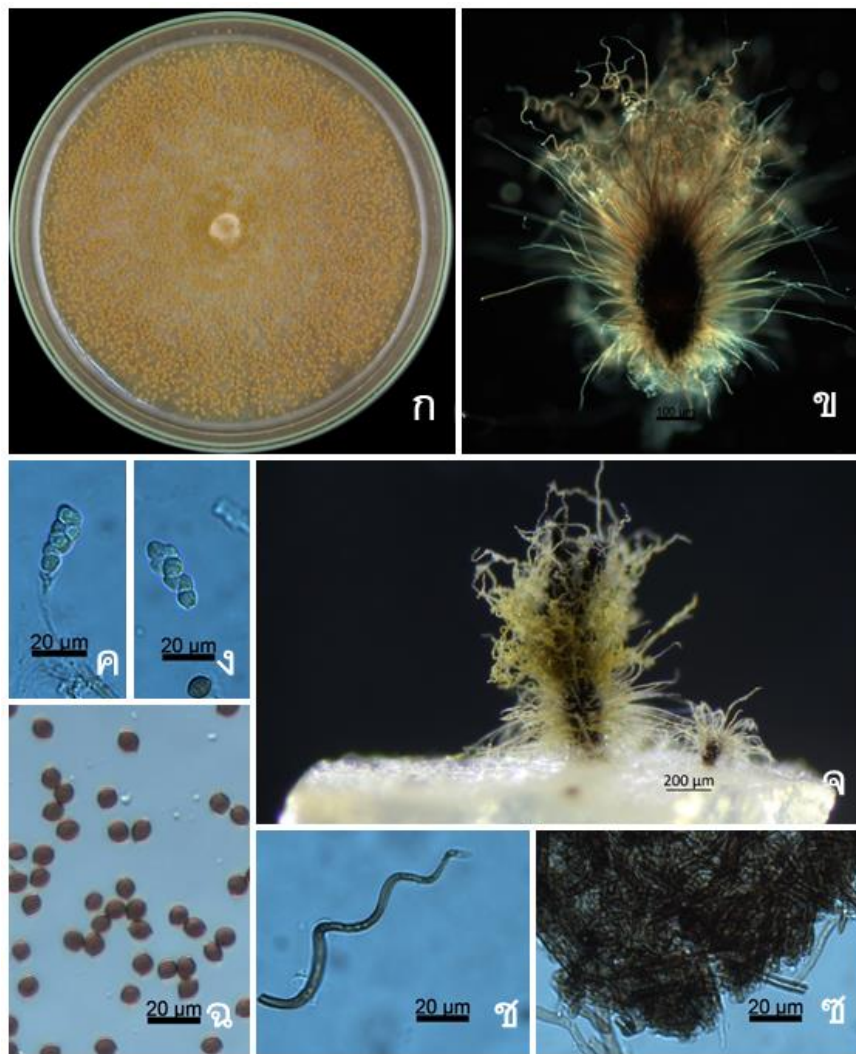
บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคลนนิ่งไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $190 - 260 \times 140 - 190$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยว เล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด 10×7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-12); (ก) โคลนนิ่งบนอาหาร PDA , (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง - จ) ascus , (ฉ) ascospore, (ช) ascomatal wall , (ฮ) ascomatal hair

เชื้อรา *Chaetomium* sp. (CMU-13), unknown 1

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคโลนีขอบเรียบ สร้าง pigment สีชมพูอ่อน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน perithecia รูปร่างรียาว สีเขียวมะกอก ขนาด $270 - 350 \times 170 - 220$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะม้วนกลับคล้ายสปริงปลายพืดัดงอ สีเขียวมะกอก ผิวขรุขระ มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 3.75 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด $8.75 - 10 \times 7.5$ ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 37)

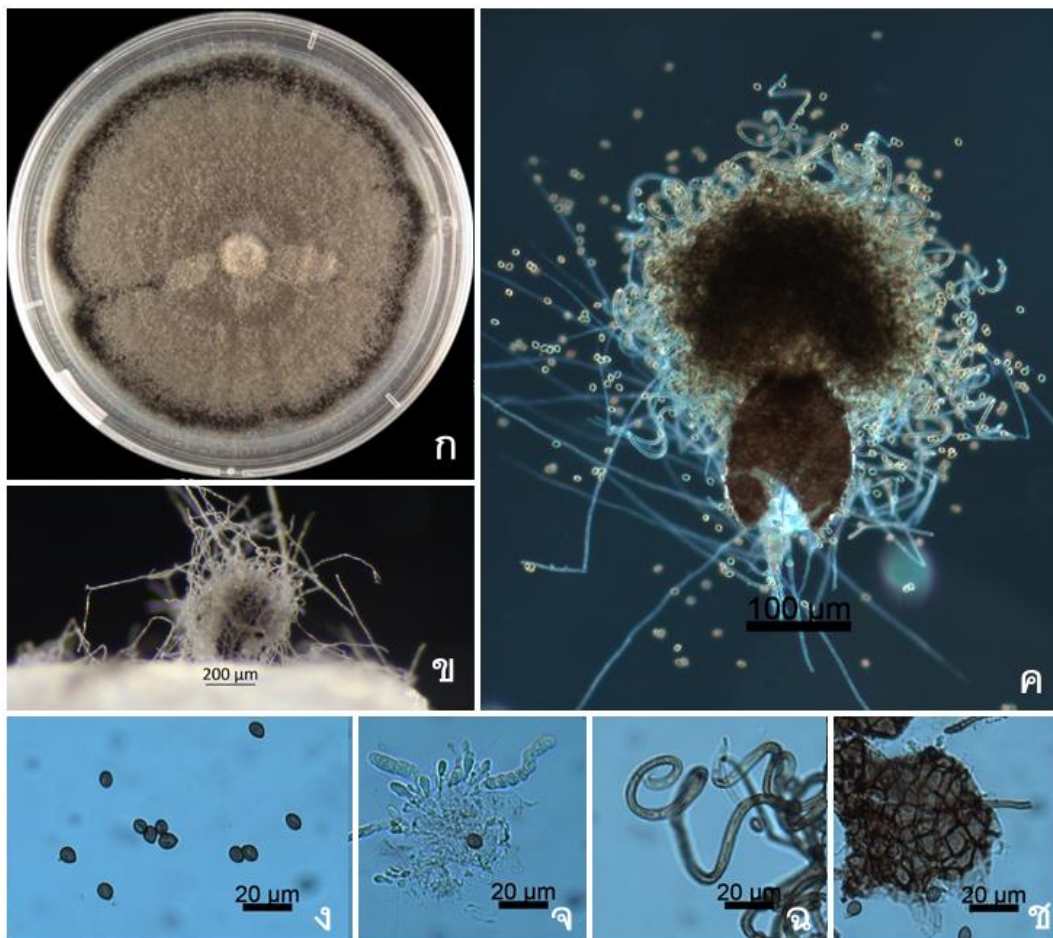


ภาพที่ 37 เชื้อรา *Chaetomium* sp. (CMU-13); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (compound microscope), (ค - ง) ascus, (จ) perithecium (stereo microscope), (ฉ) ascospore, (ช) ascomatal hair และ (ซ) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-14)

Chaetomium brasiliense Batista et Pontual, in Bol. Sec. Agr. Ind. Com., Pernambuco, 15: 69 (1948)

บนอาหาร PDA เส้นใยสีขาวปนเทา ขอบโคโลนีไม่เรียบ พู ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 20 วัน perithecia รูปร่างค่อนข้างกลม ดำ ขนาด $110 - 150 \times 90 - 130$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 30 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายมีวนกลับคล้ายสปริง สีเทา มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเทา ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอกท่ายมน ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปไข่ มีขนาด $7.5 - 8.75 \times 5 - 7.5$ ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 38)

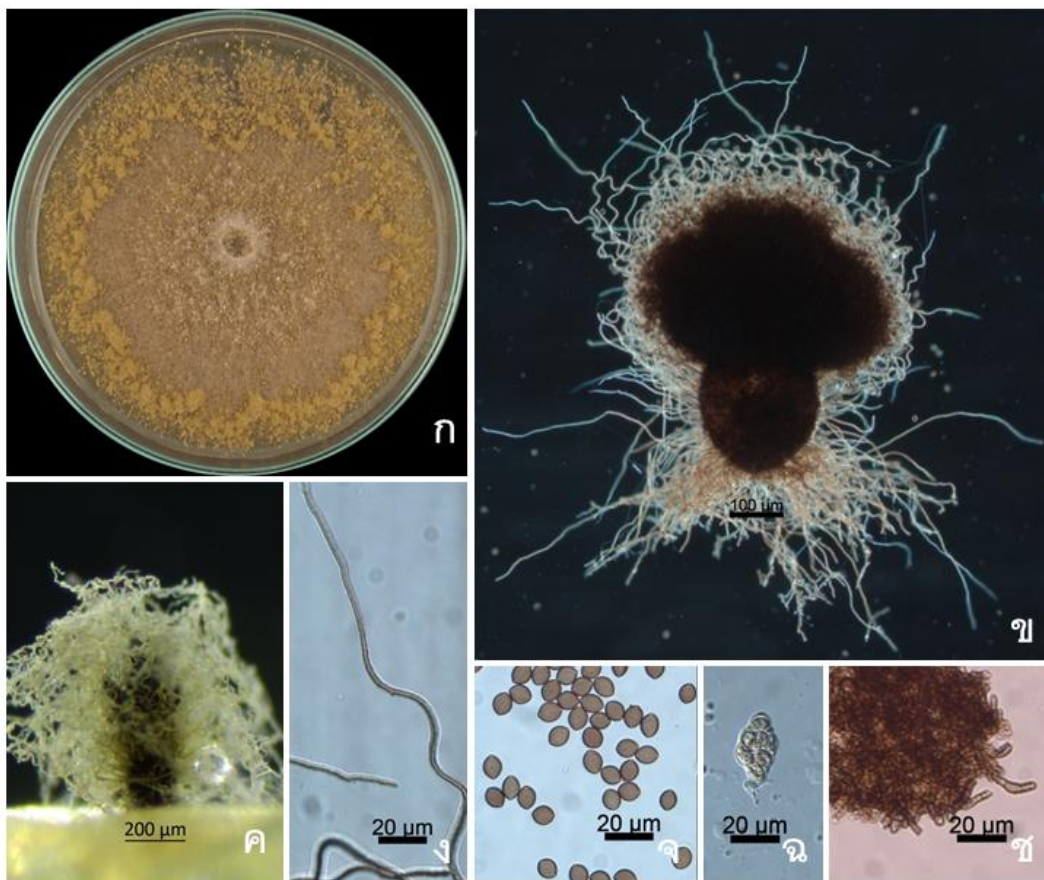


ภาพที่ 38 เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-14); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascospore, (จ) ascus, (ฉ) ascomatal hair และ (ช) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-15)

Chaetomium globosum Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1829)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ สร้าง pigment สีชมพูอ่อน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $150 - 230 \times 110 - 190$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน พบ ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) พบ terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด $10 \times 5 - 7.5$ ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 39)

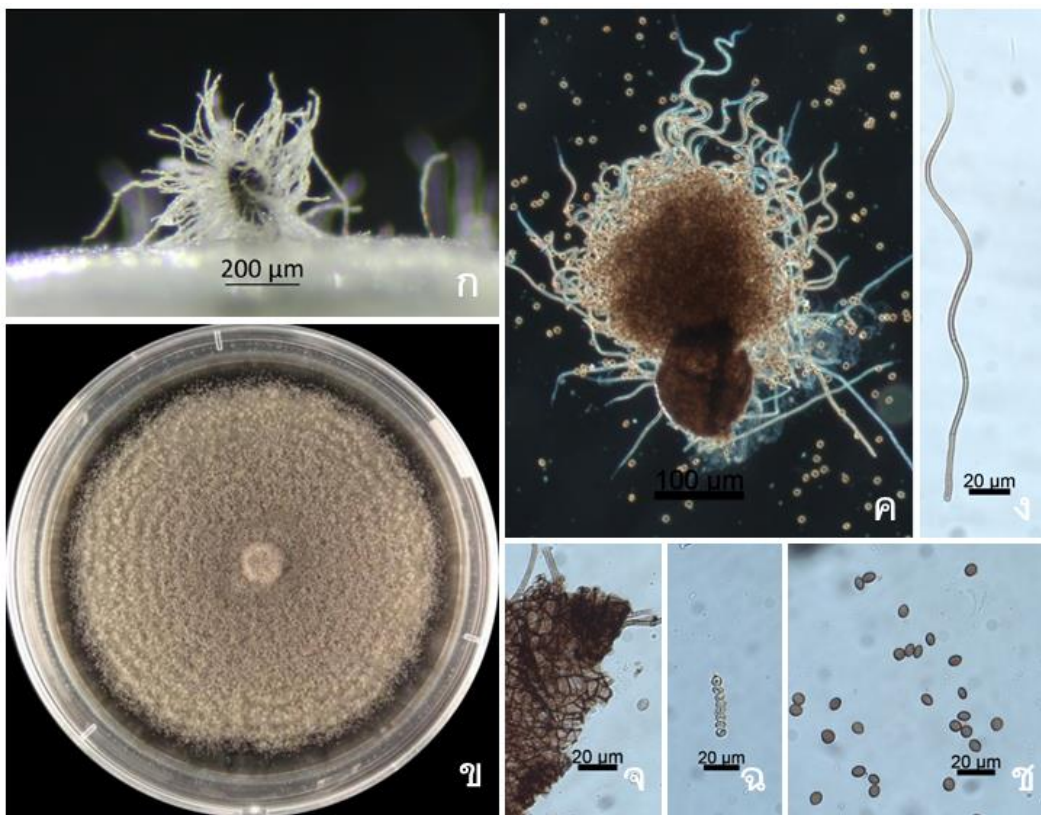


ภาพที่ 39 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-15); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (compound microscope), (ค) perithecium (stereo microscope), (ง) ascomatal hair, (จ) ascospore, (ฉ) ascus และ (ช) ascomatal wall

เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-16)

Chaetomium brasiliense Batista et Pontual, in Bol. Sec. Agr. Ind. Com., Pernambuco, 15: 69 (1948)

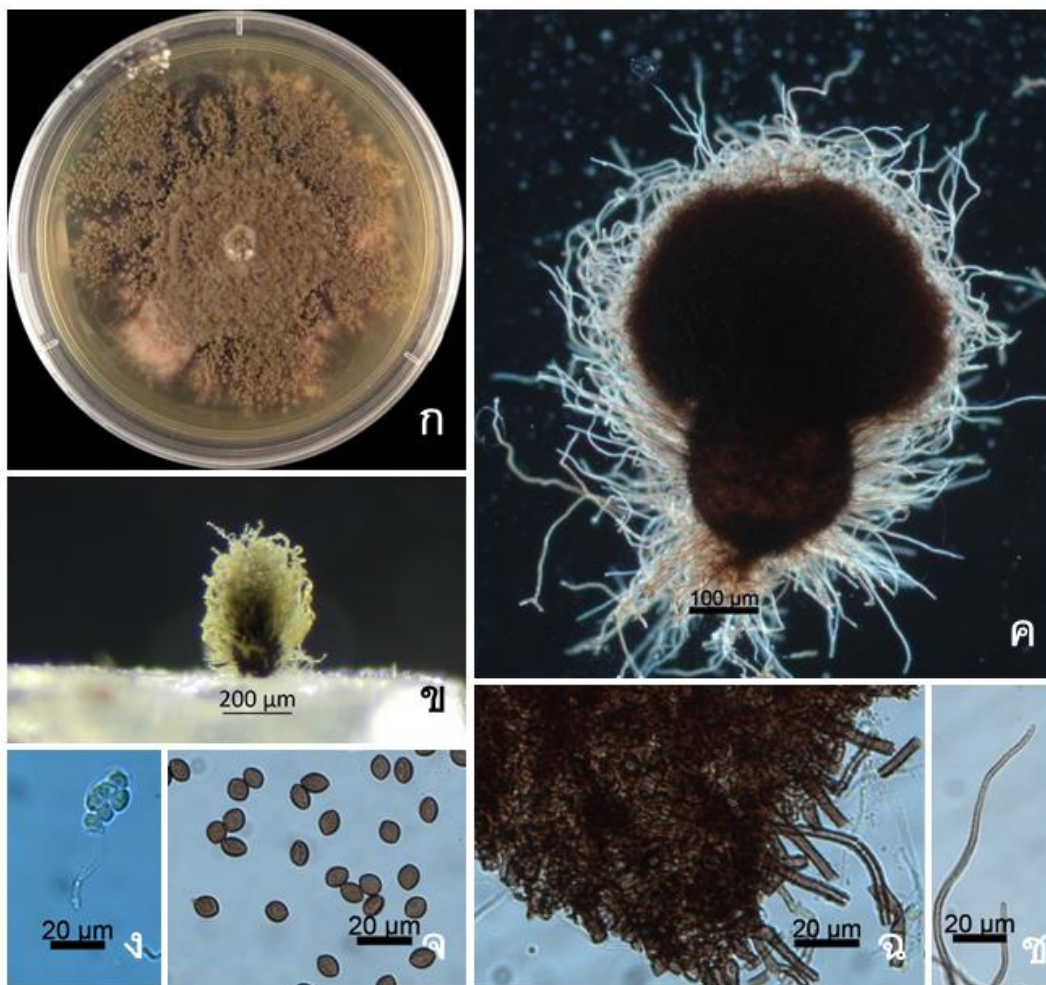
บนอาหาร PDA เส้นใยสีขาวปนเทา ขอบโคโลนีไม่เรียบ พู ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 20 วัน perithecia รูปร่างค่อนข้างกลม สีดำ ขนาด $110 - 170 \times 100 - 150$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 30 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis มี terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายม้วนกลับคล้ายสปริง สีเทา มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.555 ไมโครเมตร พบ lateral hairs สีเทา ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอกปลายมน ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปไข่ มีขนาด $7.5 \times 5 - 7.5$ ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 40)



ภาพที่ 40 เชื้อรา *Chaetomium brasiliense* (CMU-16); (ก) perithecium (stereo microscope), (ข) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascomatal hair, (จ) ascomatal wall, (ฉ) ascus และ (ช) ascospore

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-17)*Chaetomium globosum* Kunze ex Fr., Systema Mycologicum 3: 255 (1829)

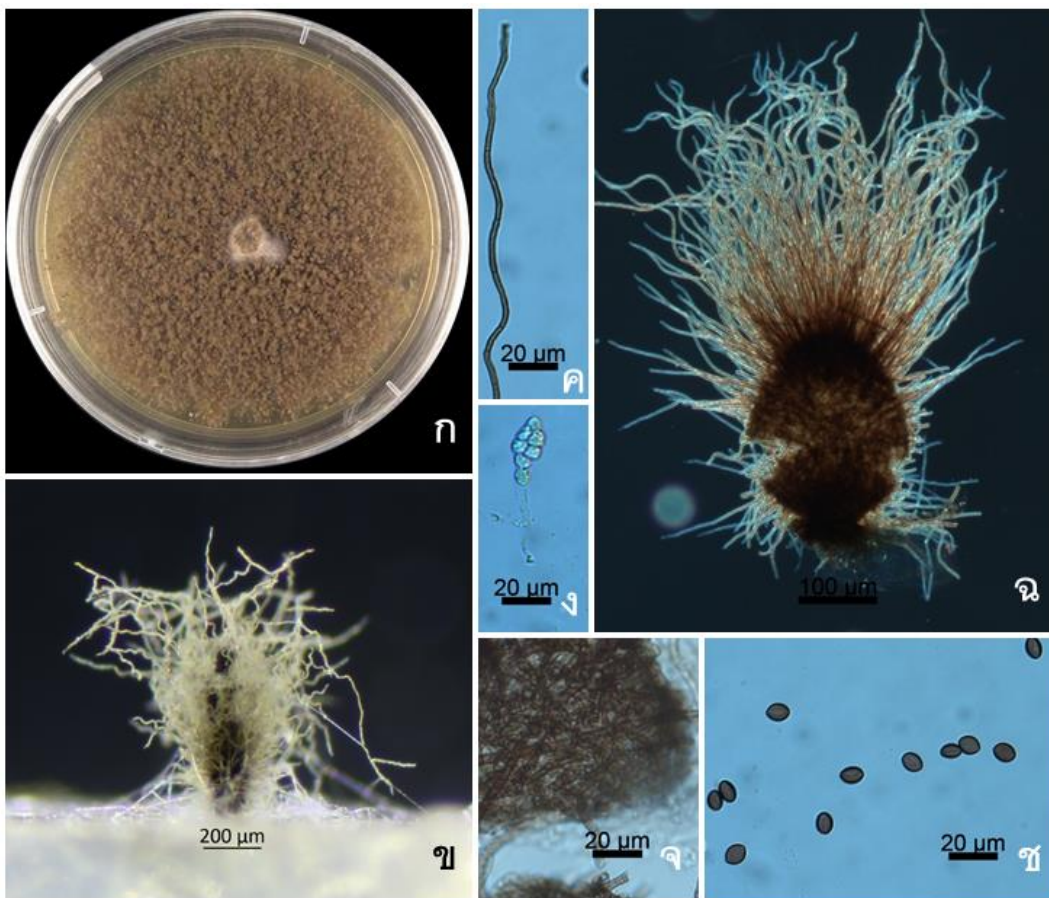
บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด 240 - 250 × 240 - 250 ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) มี terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยวเล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ lateral hair สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape ขนาด 8.75 - 10 × 7.5 ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 41)



ภาพที่ 41 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-17); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascus, (จ) ascospore, (ฉ) ascomatal wall และ (ช) ascomatal hair

เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-18)*Chaetomium globosum* Kunze ex Fr. Systema Mycologicum 3: 255 (1829)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ไม่สร้าง pigment บนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีเขียวมะกอก ขนาด $170 - 220 \times 170 - 220$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 20 วัน ascatal wall เรียงตัวแบบ intricata (hyphae appear interwoven) terminal hairs ลักษณะบริเวณปลายคดเคี้ยว เล็กน้อย ยาว มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร พบ lateral hairs สีเขียวมะกอก มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาล รูปร่าง lemon shape มีขนาด $7.5 - 10 \times 5 - 7.5$ ไมโครเมตร พบ germ pore (ภาพที่ 42)

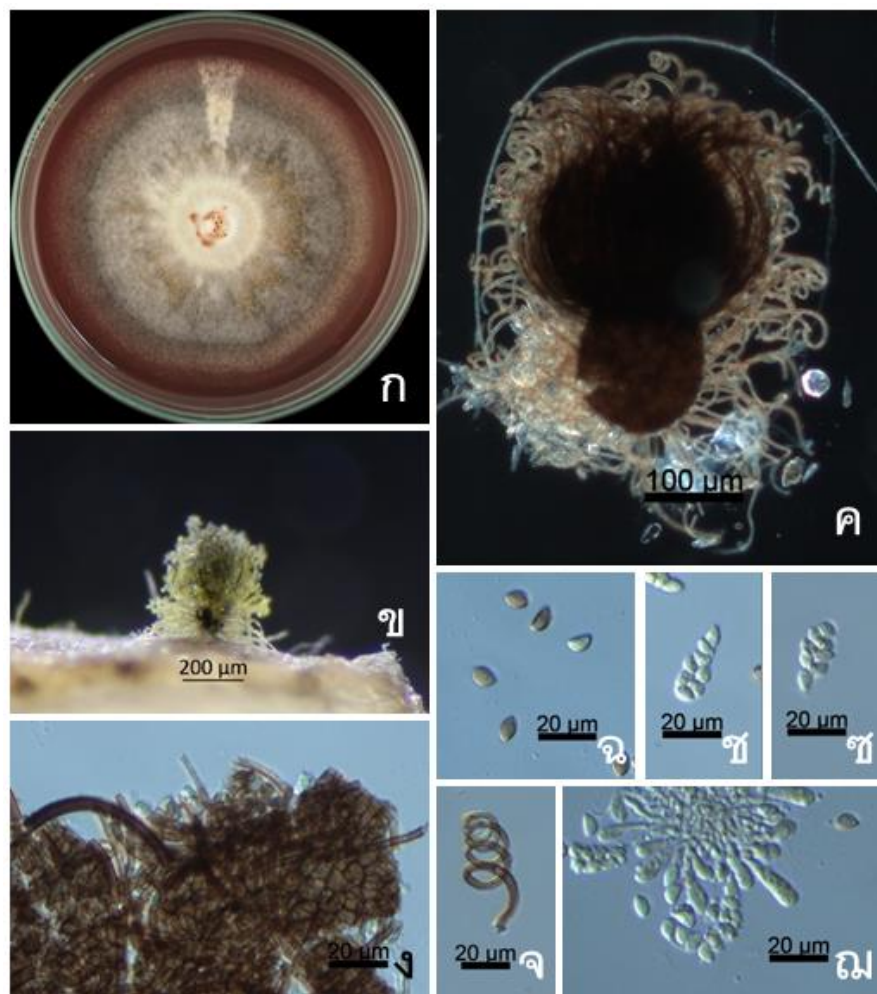


ภาพที่ 42 เชื้อรา *Chaetomium globosum* (CMU-18); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) ascatal hair, (ง) ascus, (จ) ascatal wall, (ฉ) perithecium (compound microscope) และ (ช) ascospore

เชื้อรา *Chaetomium aureum* (CMU-19)

Chaetomium aureum Chivers (1912)

บนอาหาร PDA ระยะแรกเส้นใยสีขาว โคโลนีขอบเรียบ สร้าง pigment สีแดงอมม่วง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 20 วัน perithecia รูปร่างรีกลม สีน้ำตาลเข้ม ขนาด $90 - 110 \times 80 - 90$ ไมโครเมตร พบ ostiolate มีการเจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 30 วัน ascomatal wall เรียงตัวแบบ angularis พบ terminal hairs ลักษณะเป็นคันศรปลายม้วน และขดตัวคล้ายสปริง สีเขียวอ่อน มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 2.5 ไมโครเมตร มี lateral hair สีเขียวอ่อน ปลายโค้งงอเล็กน้อย มีผนังกันเซลล์ มีขนาด 5 ไมโครเมตร พบ asci การเรียงตัวเป็นรูปกระบอง club shape ผิวบาง สร้าง 8 ascospore/ascus และ ascospore สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม รูปร่างแบบ reniform, lunate หรือ fusiform มีขนาด 7.5×5 ไมโครเมตร พบ germ pore หนึ่งตำแหน่ง (ภาพที่ 43)



ภาพที่ 43 เชื้อรา *Chaetomium aureum* (CMU-19); (ก) โคโลนีบนอาหาร PDA, (ข) perithecium (stereo microscope), (ค) perithecium (compound microscope), (ง) ascomatal wall, (จ) ascomatal hair, (ฉ) ascospore และ (ช – ณ) ascus

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในห้องปฏิบัติการ

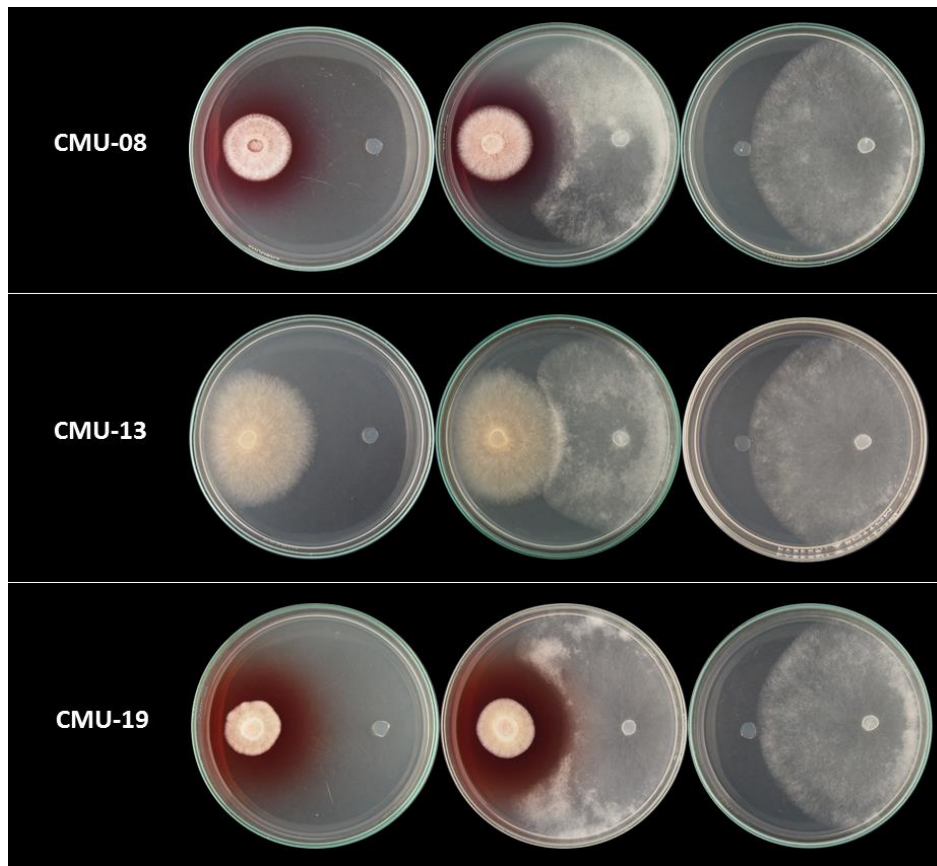
การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้งหมด 19 ไอโซเลตต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp (P-05) โดยมีค่า PIRG เท่ากับ 50.55, 48.89 และ 50.00 % ตามลำดับ ซึ่งค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$ (ตารางที่ 5) เมื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต (CMU-08) และ (CMU-19) สร้างสารทุติยภูมิบริเวณรอบโคโลนีทำให้เกิด inhibition zone ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ในขณะที่เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต (CMU-13) มีการเจริญอย่างรวดเร็วพบการทับซ้อนกันระหว่างปลายเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค (ภาพที่ 44)

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต (CMU-08) และ (CMU-19) สร้างสารทุติยภูมิออกมาจากเส้นใย โดยในรายงานของ Hung *et al.* (2015) พบว่า เชื้อรา *Chaetomium cupreum* (CC3003) มีความสามารถในการสร้างสารทุติยภูมิ ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเชื้อรา *Ph. palmivora* (PHY02) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของส้มโอ และในรายงานของ Kanokmedhakul (2006) ที่ใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* (CC3003) ในการควบคุม *Candida albicans* ($EC_{50} = 0.6$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในส่วนของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต CMU-13 แสดงการซ้อนทับของเส้นใยในการเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกัน การเจริญซ้อนทับกันในลักษณะนี้พบว่ามีรายงานในงานวิจัยของ Hung *et al.* (2015) ที่แสดงกลไกการเป็นปฏิปักษ์โดยการพันรัดเส้นใยเชื้อรา *Ph. palmivora* (PHY02) จากเชื้อรา *C. lucknowense* ส่งผลให้เชื้อสาเหตุโรคสูญเสียความสามารถในการเจริญและการก่อโรคไปในที่สุด ในรายงานของ Chet (1987) พบกลไกการพันรัดเส้นใยและทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. และ *Gliocladium* sp. นอกจากนี้กลไกการทำลายเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อราไอโซเลต (CMU-13) อาจมีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *Gliocladium virens* ในรายงานของ Anitha and Murugesan (2001) ที่แสดงกลไกการพันรัดเส้นใยและทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อรา *Gliocladium virens* โดยปล่อยสารปฏิชีวนะคือ gliotoxin ในการยับยั้งกระบวนการเจริญภายในเซลล์ของเชื้อรา *Alternaria helianthi* ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคสูญเสียการมีชีวิตไปในที่สุด

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

เชื้อราปฏิปักษ์	รัศมีของโคโลนีเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp.		PIRG ^{1/}
	P-05 (mm.)		
	control	dual culture	
CMU-01	45.0	24.5	45.55 ^{BC}
CMU-02	45.0	26.0	42.22 ^C
CMU-03	45.0	27.8	38.33 ^D
CMU-04	45.0	31.5	29.99 ^{FG}
CMU-05	45.0	30.0	33.33 ^{EF}
CMU-06	45.0	25.0	44.44 ^C
CMU-07	45.0	29.8	33.88 ^E
CMU-08	45.0	22.3	50.55 ^A
CMU-09	45.0	25.5	43.33 ^C
CMU-10	45.0	26.0	42.22 ^C
CMU-11	45.0	35.5	21.11 ^H
CMU-12	45.0	27.8	38.33 ^D
CMU-13	45.0	23.0	48.89 ^{AB}
CMU-14	45.0	35.0	22.22 ^H
CMU-15	45.0	24.8	44.99 ^C
CMU-16	45.0	32.8	27.21 ^G
CMU-17	45.0	28.8	36.11 ^{DE}
CMU-18	45.0	29.8	33.88 ^E
CMU-19	45.0	22.5	50.00 ^A
LSD	-	-	3.51
%C.V.	-	-	6.49

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตัวเลขค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$ และ PIRG = Percent inhibition of radial growth



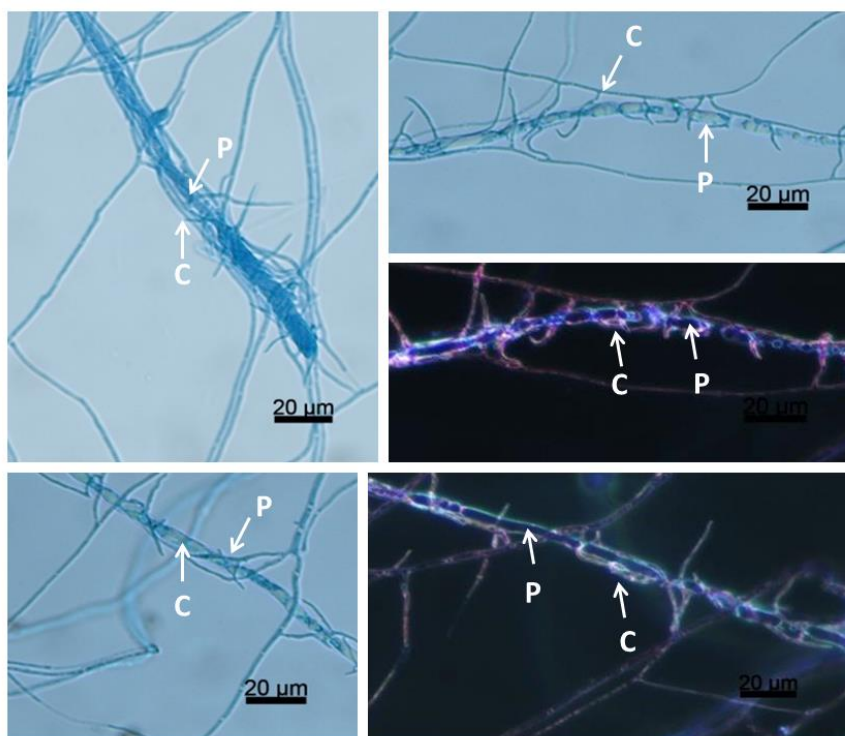
ภาพที่ 44 การยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน โดยเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19)

4.3 การศึกษาการเข้าทำลายเชื้อ *Phytophthora palmivora* ของเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยวิธี slide culture method

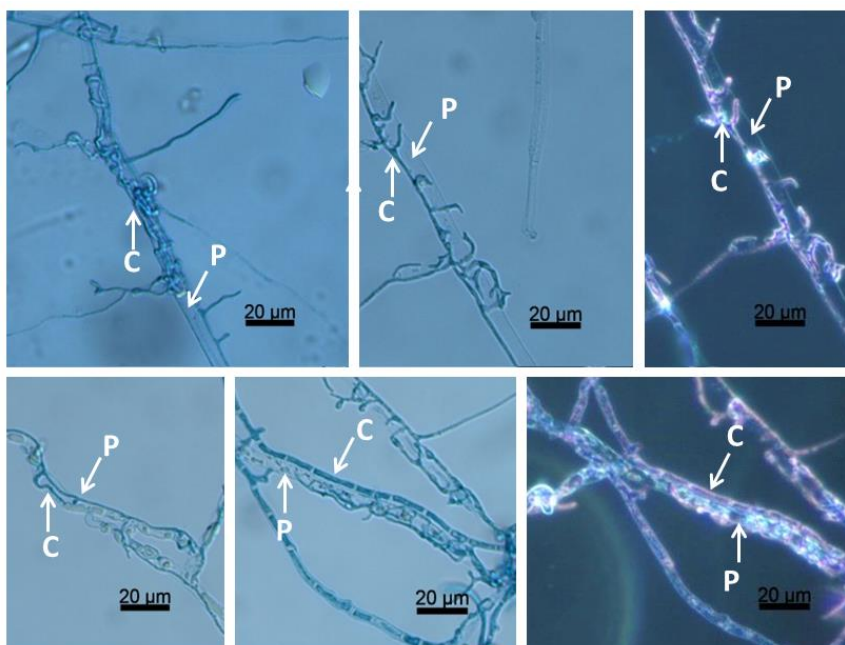
การศึกษากกลไกการทำลายเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) โดยเชื้อรา *Chaetomium* spp. พบว่า เมื่อนำเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อราปฏิปักษ์มาเลี้ยงบน slide ร่วมกันการเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19) (ภาพที่ 45, 46, 47) แสดงกลไกการพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) หลังจากการทดลองเป็นเวลา 2 วัน โดยเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์จะมีการเจริญไปตามผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคและมีการแตกเส้นใยโอบรอบเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคเพื่อพันรัดและสร้างสารทำลายการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรค ในเวลาต่อมาผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคจะแตกสลายสลายไปไปในที่สุด และพบว่าเชื้อราปฏิปักษ์สามารถพันรัดและแทงผ่านผนังของ chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคทำให้ chlamydospore ที่ถูกทำลายมีลักษณะเหี่ยวและสลายตัวไปในที่สุด

จากการทดลองการศึกษากกลไกการทำลายเชื้อสาเหตุโรคโดยเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่า เชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลทมีความสามารถในการทำลายเชื้อสาเหตุโรค โดยแสดงการพันรัดเส้นใยและแทงผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์ และ chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรค ทำให้เชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญต่อไปได้ สอดคล้องกับรายงานของ Hung et al. (2015) ที่รายงานว่าความเป็นปรสิตของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. จะเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค และทำการแทงผ่านเส้นใยเข้าไปสู่เส้นใยเชื้อสาเหตุโรคจากนั้นจะทำการปล่อยสารปฏิชีวนะ

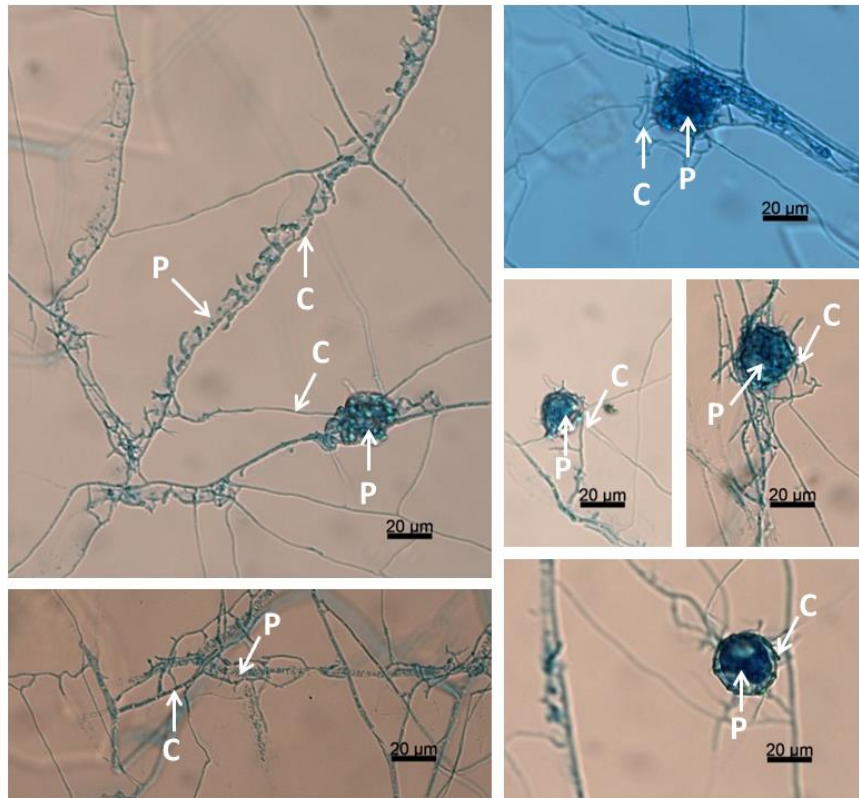
ทำให้เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคเกิดความผิดปกติและได้รับเอนไซม์ cellulase ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคแตกสลาย



ภาพที่ 45 การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium cupreum* (CMU-08); (C) ที่เป็นส่วนติดต่อ เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05); (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน



ภาพที่ 46 การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13); (C) ที่เป็นส่วนติดต่อ เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05), (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน



ภาพที่ 47 การเจริญของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium aureum* (CMU-19); (C) ที่เป็นปรสิตต่อเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05), (P) สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียน

4.4 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) จากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

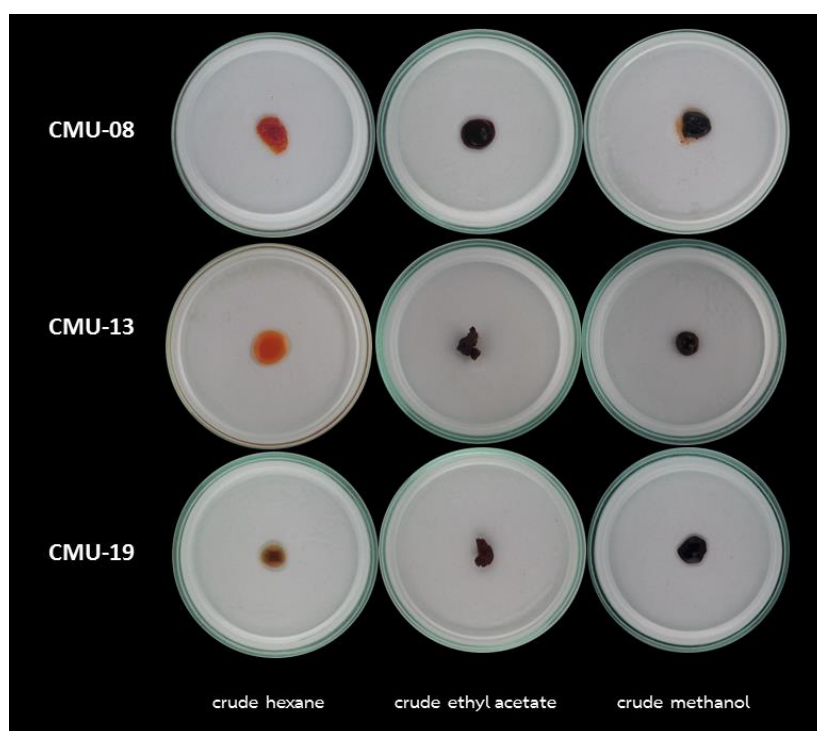
จากการเลี้ยงเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลต CMU-08 ในขวดโหลที่มีอาหาร PDB ปริมาณ 50 มิลลิลิตรต่อขวด จำนวน 500 ขวด เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อแยกเส้นใยเชื้อราออกจากอาหารเหลว PDB จะได้เส้นใยน้ำหนักรวม 1,700 กรัม จากนั้นทำการระเหยนํ้าออกจากเส้นใยโดยการอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วันจะได้เส้นใยเชื้อรามีน้ำหนักแห้ง 147.26 กรัม นำเส้นใยเชื้อราไปบดในโถร่ง แล้วแช่ด้วยตัวละลาย hexane ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ hexane ปริมาณ 2.19 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย ethyl acetate ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ ethyl acetate ปริมาณ 3.32 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย methanol ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ methanol ปริมาณ 7.03 กรัม (ตารางที่ 4; ภาพที่ 48)

จากการเลี้ยงเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13) ในขวดโหลที่มีอาหาร PDB ปริมาณ 50 มิลลิลิตรต่อขวด จำนวน 500 ขวด เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อแยกเส้นใยเชื้อราออกจากอาหารเหลว PDB จะได้เส้นใยน้ำหนักสด 2,130 กรัม จากนั้นทำการระเหยนํ้าออกจากเส้นใยโดยการอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วันจะได้เส้นใยเชื้อราน้ำหนักแห้ง 148.90 กรัม นำเส้นใยเชื้อราไปบดในโกร่ง แล้วแช่ด้วยตัวละลาย hexane ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ hexane ปริมาณ 1.41 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย ethyl acetate ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary vacuum evaporator จะได้สารสกัดหยาบ ethyl acetate ปริมาณ 4.00 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย methanol ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ methanol ปริมาณ 19.42 กรัม (ตารางที่ 4; ภาพที่ 48)

จากการเลี้ยงเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลท CMU-19 ในขวดโหลที่มีอาหาร PDB ปริมาณ 50 มิลลิลิตรต่อขวด จำนวน 500 ขวด เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อแยกเส้นใยเชื้อราออกจากอาหารเหลว PDB จะได้เส้นใยน้ำหนักสด 1,210 กรัม จากนั้นทำการระเหยนํ้าออกจากเส้นใยโดย การอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วันจะได้เส้นใยเชื้อราน้ำหนักแห้ง 44.13 กรัม นำเส้นใยเชื้อราไปบดในโกร่ง แล้วแช่ด้วยตัวละลาย hexane ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ hexane ปริมาณ 0.72 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย ethyl acetate ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ ethyl acetate ปริมาณ 1.45 กรัม ส่วนเส้นใยที่เหลือจากการกรองนำไปแช่ในตัวทำละลาย methanol ในปริมาตร 1:1 (W/V) เขย่าบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน กรองแยกเส้นใยเชื้อราและสารละลายด้วย Whatman filter paper No. 4 นำสารละลายที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ methanol ปริมาณ 7.03 กรัม (ตารางที่ 4; ภาพที่ 48)

ตารางที่ 6 ปริมาณสารสกัดหายาจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19)

เชื้อราปฏิปักษ์	ชนิดสารสกัดหายา	ปริมาณเส้นใย (g)		ปริมาณสารสกัดหายา (g)
		สด	แห้ง	
(CMU-08)	hexane			2.19
	ethyl acetate	1,700.00	147.26	3.32
	methanol			6.17
(CMU-13)	hexane			1.41
	ethyl acetate	2,300.00	148.90	4.00
	methanol			19.42
(CMU-19)	hexane			0.72
	ethyl acetate	1,210.00	44.13	1.45
	methanol			7.03



ภาพที่ 48 ลักษณะสารสกัดหายาจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่สกัดด้วย hexane, ethyl acetate และ methanol

4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) จากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

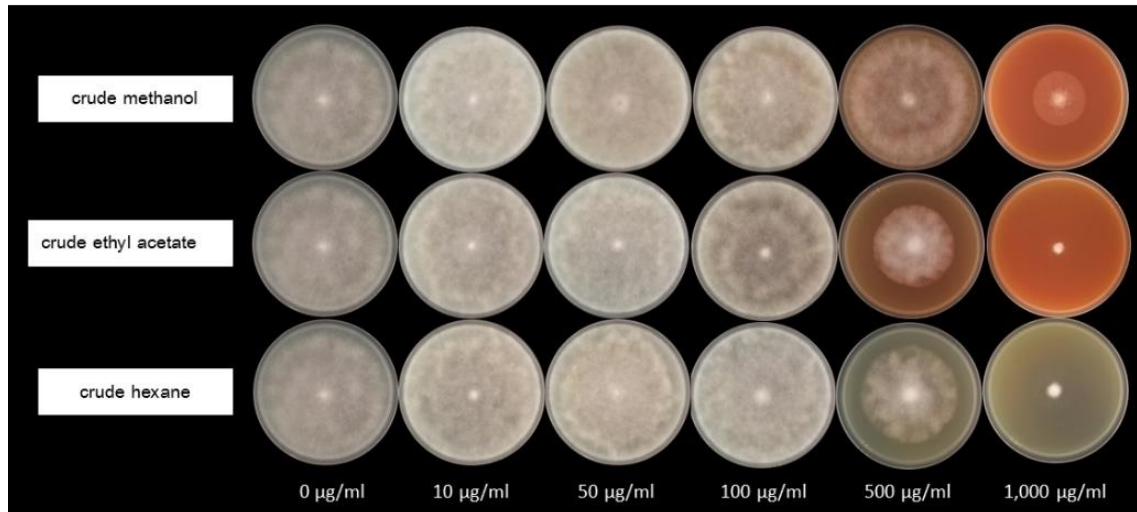
การทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* spp. ไอโซเลท (P-05) บนอาหาร PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาบแต่ละชนิดที่ได้จากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลท (CMU-08) ในความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบ hexane และ ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้มากที่สุด ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติคือ 76.25 และ 74.69 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่า ED_{50} พบว่าสารสกัดหยาบ ethyl acetate มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคน้อยที่สุด ที่ความเข้มข้น 555.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาลักษณะปลายเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า สารสกัดหยาบจาก hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเจริญที่ผิดปกติของเส้นใยโดยโคโลนีที่พบจะมีลักษณะบางเรียบไม่ฟู ปลายเส้นใยที่เจริญมีลักษณะผิดปกติ มีขนาดใหญ่และสั้นหยุดการเจริญ ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพที่ 49) ในส่วนของสารสกัดหยาบจาก ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเจริญของโคโลนีโดยพบการเจริญของโคโลนีบางเรียบ ไม่ฟูเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ปลายเส้นใยมีลักษณะใหญ่ผิดปกติ และบางพบเห็นความผิดปกติ cytoplasm บริเวณปลายเส้นใย (ภาพที่ 50) ไม่พบการสร้าง chlamydospore และเมื่อตรวจสอบปลายเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจาก methanol ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบโคโลนีขอบเรียบฟู ปลายเส้นใยหลักมีการหยุดเจริญ มีการแตกปลายเส้นใยใหม่เจริญซ้ำ พบสร้าง chlamydospore ในปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ในขณะที่การยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรค สารสกัดหยาบจาก hexane, ethyl acetate และ methanol มีค่าการยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคมากที่สุด โดยค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติคือ 100.00, 100.00 และ 94.68 % ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบ methanol มีค่า ED_{50} การยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคที่น้อยที่สุด คือ 0.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 5)

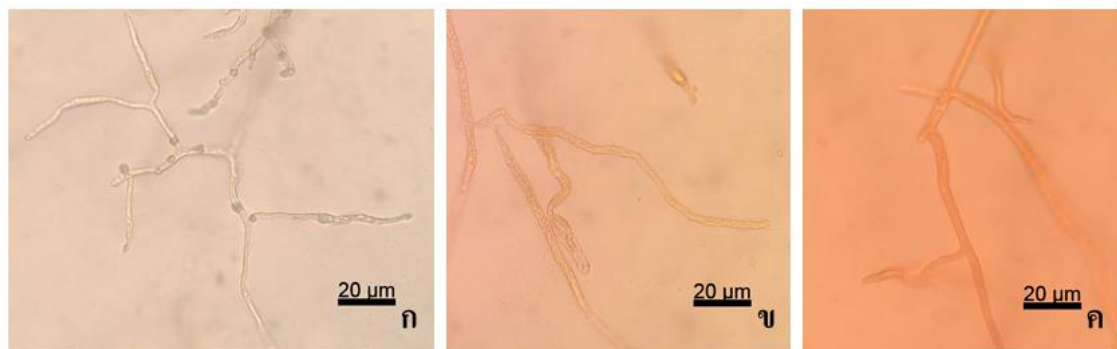
ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลท (CMU-08) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา *Phytophthora* spp.

สารสกัดหยาบ (CMU-08)	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ผลสารสกัดหยาบในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)			
		PIRG ^{1/}	ED ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	CI ^{1/}	ED ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
crude hexane	0	0.00 ^E		0.00 ^K	
	10	0.00 ^E		19.45 ^J	
	50	0.00 ^E		31.61 ^I	
	100	0.00 ^E	762.27	71.88 ^F	62.62
	500	32.00 ^D		86.32 ^D	
	1,000	76.25 ^A		100.00 ^A	
crude ethyl acetate	0	0.00 ^E		0.00 ^K	
	10	0.00 ^E		46.05 ^H	
	50	0.00 ^E		50.23 ^H	
	100	0.00 ^E	555.47	45.29 ^H	33.20
	500	47.19 ^C		93.16 ^{BC}	
	1,000	74.69 ^A		100.00 ^A	
crude methanol	0	0.00 ^E		0.00 ^K	
	10	0.00 ^E		63.91 ^G	
	50	0.00 ^E		76.82 ^{EF}	
	100	0.00 ^E	4,093.52	79.48 ^E	0.93
	500	2.81 ^E		87.46 ^{CD}	
	1,000	64.38 ^B		94.68 ^{AB}	
% C.V.		17.01		7.75	
LSD.		3.98		6.39	

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตัวเลขค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$, PIRG = percent inhibition of radial growth และ CI = chlamydospore inhibition



ภาพที่ 49 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหารผสมสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลท (CMU-08) ในความเข้มข้นแตกต่างกัน



ภาพที่ 50 ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลท (CMU-08) ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05)
 (ก) สารสกัดยับยั้ง hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 (ข) สารสกัดยับยั้ง ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ
 (ค) สารสกัดยับยั้ง methanol ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13)

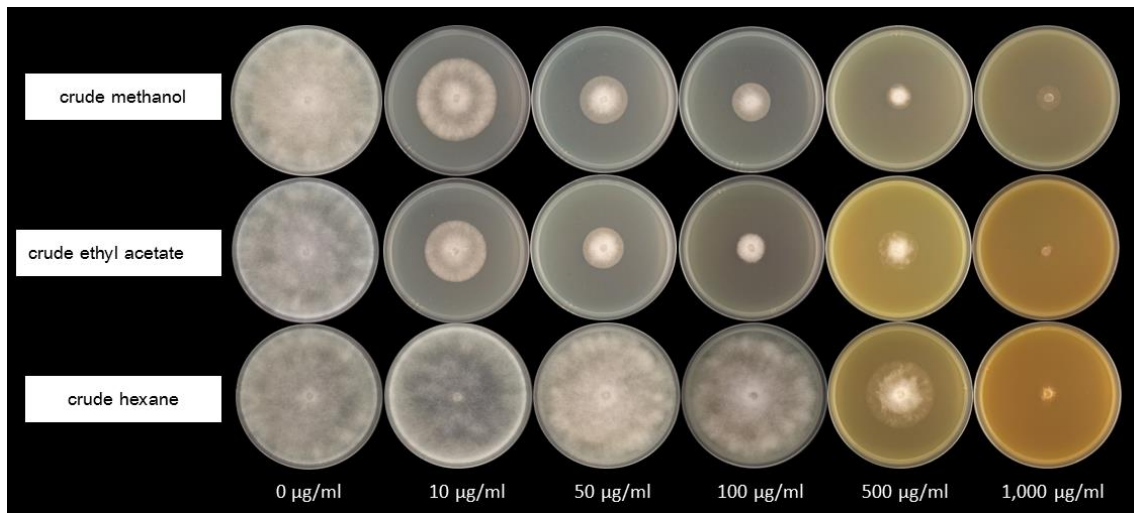
การทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหาร PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาบแต่ละชนิดที่ได้จากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13) ในความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก methanol ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลค่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคที่ดีที่สุด โดยค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ 86.10 และ 87.34 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดหยาบทั้งสามชนิดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรค สารสกัดหยาบจาก methanol มีค่า ED_{50} การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคน้อยที่สุด ที่ความเข้มข้น 10.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาลักษณะปลายเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า สารสกัดหยาบจาก hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเจริญที่ผิดปกติของเส้นใย โดยโคโลนีที่พบจะมีลักษณะบางเรียบไม่ฟู ปลายเส้นใยที่เจริญมีลักษณะคล้ายแคปซูลสีน้ำตาลเข้ม ไม่เจริญต่อ (ภาพที่ 51) พบการสร้าง chlamydospore ในปริมาณน้อยมาก ในส่วนของสารสกัดหยาบจาก ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเจริญของโคโลนีโดยพบการเจริญของโคโลนีบางเรียบ ไม่ฟู เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ปลายเส้นใยมีลักษณะผิวหยาบคดงอเจริญช้ากว่าชุดควบคุม พบการสร้าง chlamydospore ในปริมาณน้อยมาก และเมื่อตรวจสอบปลายเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจาก methanol ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบโคโลนีขอบเรียบ ไม่ฟู มีการแตกปลายเส้นใยใหม่ และบางพบความผิดปกติ cytoplasm บริเวณปลายเส้นใย (ภาพที่ 52) พบสร้าง chlamydospore ในปริมาณน้อยมาก เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ในขณะที่การยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรค สารสกัดหยาบจาก hexane, ethyl acetate และ methanol ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัด methanol ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคมากที่สุด โดยค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติคือ 99.60, 99.19, 98.79 และ 94.34 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดหยาบทั้งสามชนิดในการยับยั้ง chlamydospore สารสกัดหยาบจาก methanol มีค่า ED_{50} การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 10.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 6)

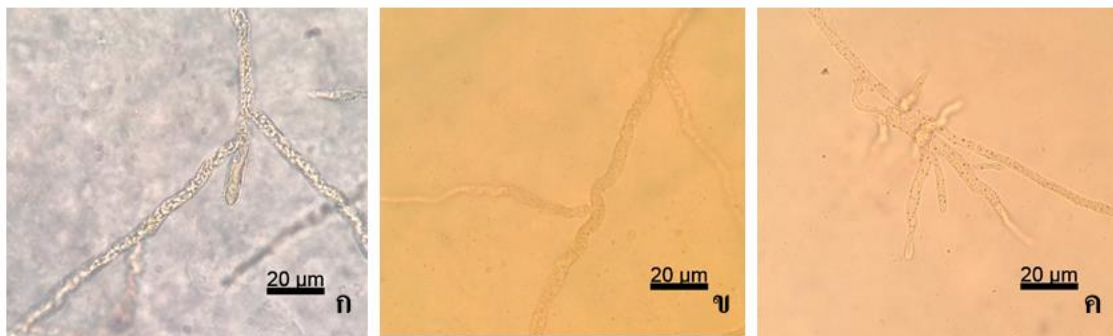
ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพสารสกัดยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05)

สารสกัดยับยั้ง (CMU-13)	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ผลสารสกัดยับยั้งในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและ การสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)			
		PIRG ^{1/}	ED ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	CI ^{1/}	ED ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
crude hexane	0	0.00 ^I		0.00 ^F	
	10	0.00 ^I		-3.16 ^F	
	50	0.00 ^I	604.65	-8.01 ^F	219.24
	100	0.00 ^I		-6.39 ^F	
	500	41.97 ^H		89.08 ^B	
	1,000	75.94 ^C		99.60 ^A	
crude ethyl acetate	0	0.00 ^I		0.00 ^F	
	10	59.22 ^G		17.48 ^E	
	50	73.28 ^D	0.14	22.74 ^E	127.59
	100	82.50 ^B		15.05 ^E	
	500	71.57 ^E		89.48 ^B	
	1,000	81.10 ^B		99.19 ^A	
crude methanol	0	0.00 ^I		0.00 ^F	
	10	42.82 ^H		52.26 ^D	
	50	69.07 ^F	10.93	67.24 ^C	6.63
	100	77.19 ^C		86.65 ^B	
	500	86.10 ^A		94.34 ^{AB}	
	1,000	87.34 ^A		98.79 ^A	
% C.V.		2.26		13.29	
LSD.		1.51		8.45	

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตัวเลขค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P=0.05$, PIRG = percent inhibition of radial growth และ CI = chlamydospore inhibition



ภาพที่ 51 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหารผสมสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13) ในความเข้มข้นแตกต่างกัน



ภาพที่ 52 ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13) ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05)

- (ก) สารสกัดยับยั้ง hexane ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (ข) สารสกัดยับยั้ง ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ
- (ค) สารสกัดยับยั้ง methanol ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดสอบสารสกัดหยาดจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลท (CMU-19)

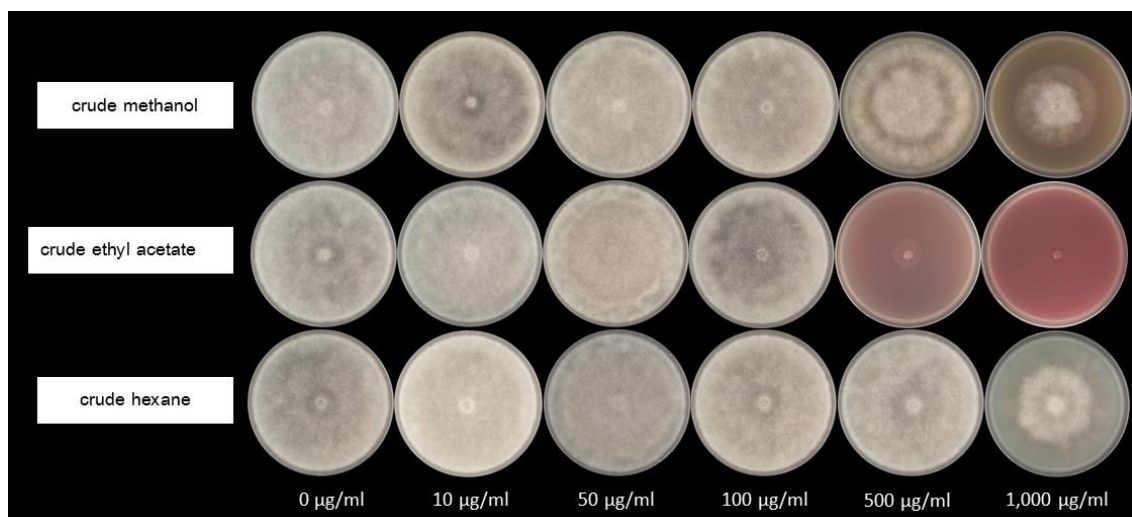
การทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหาร PDA ที่ผสมกับสารสกัดหยาดแต่ละชนิดที่ได้จากเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลท (CMU-19) ในความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาดที่ได้จาก ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลค่าการยับยั้งการเจริญเส้นใยเท่ากับ 100 % (ภาพที่ 53) เมื่อเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดหยาดทั้งสามชนิดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรค สารสกัดหยาดจาก ethyl acetate มีค่า ED_{50} การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 221.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาลักษณะปลายเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า สารสกัดหยาดจาก ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเจริญที่ผิดปกติของเส้นใย โดยโคโลนีที่พบจะมีลักษณะบางเรียบไม่ฟู ปลายเส้นใยที่เจริญมีลักษณะคล้ายปะการัง เส้นใยเชื้อรามีลักษณะบวมพองเป็นระยะ มีการแตกแขนงมาก พบรูปร่างของพิวผนังเซลล์เป็นจำนวนมาก ภายในเส้นใยเชื้อราพบ cytoplasm ในบางตำแหน่งของเส้นใย และไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพที่ 54)

ในขณะที่การยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรค สารสกัดจาก hexane ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาด ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการสร้าง chlamydospore ของเชื้อสาเหตุโรคมากที่สุด โดยค่าที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติคือ 93.80, 100.00 และ 100.00 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า ED_{50} ของสารสกัดหยาดทั้งสามชนิดในการยับยั้ง chlamydospore สารสกัดหยาดจาก ethyl acetate มีค่า ED_{50} การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคน้อยที่สุด ที่ความเข้มข้น 19.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 7)

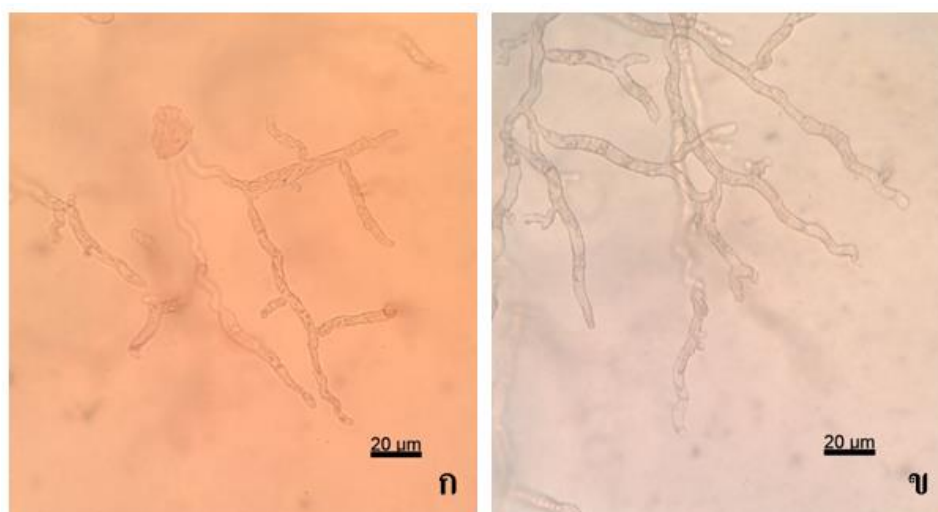
ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลท (CMU-19) ในความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05)

สารสกัดหยาบ (CMU-19)	ความเข้มข้น (µg/ml)	ผลสารสกัดหยาบในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. (P-05)			
		PIRG ^{1/}	ED ₅₀ (µg/ml)	CI ^{1/}	ED ₅₀ (µg/ml)
crude hexane	0	0.00 ^E	>50,000.00	0.00 ^H	22.57
	10	0.00 ^E		48.91 ^E	
	50	0.00 ^E		52.92 ^{DE}	
	100	0.00 ^E		55.47 ^{CD}	
	500	0.00 ^E		93.80 ^{AB}	
	1,000	6.69 ^D		91.61 ^B	
crude ethyl acetate	0	0.00 ^E	221.04	0.00 ^H	19.76
	10	0.00 ^E		52.55 ^{DE}	
	50	0.00 ^E		50.37 ^{DE}	
	100	0.00 ^E		59.85 ^C	
	500	77.27 ^B		100.00 ^A	
	1,000	100.00 ^A		100.00 ^A	
crude methanol	0	0.00 ^E	36,217.25	0.00 ^H	53.21
	10	0.00 ^E		40.15 ^F	
	50	0.00 ^E		41.61 ^F	
	100	0.00 ^E		39.42 ^F	
	500	0.00 ^E		90.88 ^B	
	1,000	45.63 ^C		93.43 ^B	
%C.V.		9.35		8.17	
LSD.		1.69		6.15	

^{1/}ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตัวเลขค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.05$, PIRG = percent inhibition of radial growth และ CI = chlamidospore inhibition



ภาพที่ 53 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนอาหารผสมสารสกัดยับยั้งจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลต (CMU-19) ในความเข้มข้นแตกต่างกัน



ภาพที่ 54 ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้ง ethyl acetate ของเชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลต CMU-19 ที่มีผลต่อปลายเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, (ก - ข) ลักษณะปลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค

การทดสอบสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่าสารสกัดหยาบ ethyl acetate (CMU-13) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อ *Phytophthora* spp. (P-05) ได้ดีที่สุดโดยแสดงค่า ED_{50} การยับยั้งการเจริญเส้นใยที่ความเข้มข้น 0.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในรายงานของ Park *et al.* (2005) ได้สกัดสาร Chaetoviridins A และ B จากเชื้อรา *Chaetomium globosum* โดยใช้ตัวทำละลายคือ ethyl acetate สารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria mali*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe grisea*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum* และ *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบจาก methanol ของเชื้อ *Chaetomium cupreum* (CMU-08) มีประสิทธิภาพในการควบคุมการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเชื้อ P-05 ได้ดีที่สุด โดยแสดงค่า ED_{50} การยับยั้งการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ความเข้มข้น 0.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Pornsuriya *et al.* (2010) ได้ทดสอบสารสกัดหยาบของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมการสร้าง oospore ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RY803) สาเหตุโรครากเน่าของสับปะรด พบว่า สารสกัดหยาบ methanol จากเชื้อรา *Ch. cupreum* NB201 และ RY202 มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งที่ 543 และ 762 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และในรายงานของ Environment and Climate Change Canada Health Canada (2018) พบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะเช่น Chaetoglobosins, Chaetomugilins, Chaetoviridins, Cytoglobosins และ Chaetomin ซึ่งคาดว่าจะมีผลในการทำลายกระบวนการเจริญเติบโตภายในเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคหลังจากที่ เชื้อรา *Ch. cupreum* CMU-13 เข้าพันรัดเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคและปลดปล่อยสารชนิดใดชนิดหนึ่งเหล่านี้ออกมาเพื่อทำลายเชื้อสาเหตุโรค โดยในรายงานของ Di Pietro *et al.* (1992) รายงานการวิจัยการใช้สาร Chaetomin ที่สกัดได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugar beet โดยมีค่า EC_{50} และ MIC ที่ 0.5 และ 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถสร้างสารที่ส่งผลต่อการควบคุมการสร้างสปอร์สืบพันธุ์ของเชื้อรากลุ่ม Oomycetes ได้

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนใบทุเรียน

เชื้อรา *Chaetomium cupreum* ไอโซเลท (CMU-08)

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก hexane ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า สารสกัดหยาบจาก hexane ไม่สามารถควบคุมการก่อโรคได้ แต่สามารถลดระดับความรุนแรงในการก่อโรคบนใบทุเรียนได้ จากการประเมินขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนใบ พบว่า ขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าชุดควบคุม ในความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 17.88, 16.25, 11.00 และ 13.50 มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 25.00 มิลลิลิตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก ethyl acetate ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า ที่ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนได้ ในขณะที่การใช้ความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ แต่สามารถลด

ระดับความรุนแรงของโรคได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลเท่ากับ 0.00, 18.00, 16.00 และ 15.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 26.25 มิลลิเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก methanol ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า สารสกัดหยาบจาก methanol ไม่สามารถควบคุมการก่อโรคได้ แต่สามารถลดระดับความรุนแรงในการก่อโรคบนใบทุเรียนได้ เมื่อวัดขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนใบ พบว่า ขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าชุดควบคุม ในความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 16.13, 14.63, 12.38 และ 11.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 23.13 มิลลิเมตร (ตารางที่ 8; ภาพที่ 55)

เชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-13)

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก hexane ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า สารสกัดหยาบจาก hexane ไม่สามารถควบคุมการก่อโรคได้ แต่สามารถลดระดับความรุนแรงในการก่อโรคบนใบทุเรียนได้ จากการประเมินขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนใบ พบว่าขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าชุดควบคุม ในความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 14.25, 14.50, 12.63 และ 8.75 มิลลิเมตรตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 22.00 มิลลิเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก ethyl acetate ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า ที่ความเข้มข้น 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนได้ และพบว่าใบทุเรียนยังมีลักษณะเขียวสดอยู่ตลอดเวลา โดยขนาดแผลที่วัดค่าได้มีขนาดเท่ากับ 2.25, 2.38, 2.13 และ 2.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีแผลขนาด 24.75 มิลลิเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก methanol ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า ที่ความเข้มข้น 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนได้ โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 2.75, 2.25, 5.38 และ 4.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ชุดเปรียบเทียบมีขนาดแผลเท่ากับ 27.38 มิลลิเมตร แต่พบว่าใบทุเรียนมีอาการเหลืองและเกิดแผลทั่วไปต่างจากการใช้สารสกัดหยาบ ethyl acetate (ตารางที่ 8; ภาพที่ 56)

เชื้อรา *Chaetomium aureum* ไอโซเลท (CMU-19)

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก hexane ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า สารสกัดหยาบจาก hexane ไม่สามารถควบคุมการก่อโรคได้ แต่สามารถลดระดับความรุนแรงในการก่อโรคบนใบทุเรียนได้ จากการประเมินขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนใบ พบว่าขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าชุดควบคุม ในความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 19.00, 19.00, 18.00 และ 8.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 24.75 มิลลิเมตร

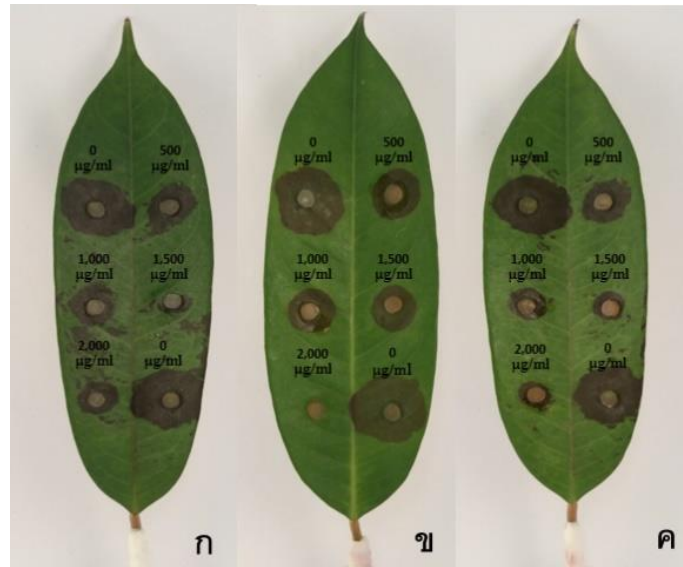
การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก ethyl acetate ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า ที่ความเข้มข้น 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียน ได้ และพบว่าใบทุเรียนยังมีลักษณะเขียวสดอยู่ตลอดเวลา โดยขนาดแผลที่วัดค่าได้มีขนาดเท่ากับ 1.75, 1.88, 1.75 และ 1.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีแผลขนาด 22.25 มิลลิเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจาก methanol ในการควบคุมโรคบนใบทุเรียน พบว่า สารสกัดหยาบจาก methanol ไม่สามารถควบคุมการก่อโรคได้ เมื่อวัดขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนใบ พบว่า ขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าชุดควบคุม ในความเข้มข้นที่ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดแผลเท่ากับ 15.50, 17.38, 16.38 และ 18.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 24.88 มิลลิเมตร (ตารางที่ 8; ภาพที่ 57)

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพของสารสำคัญในสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไอโซเลท (CMU-08), (CMU-13) และ (CMU-19) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการลดขนาดของแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) บนใบทุเรียน

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าเฉลี่ยขนาดแผล (mm)		
		(CMU-08)	(CMU-13)	(CMU-19)
hexane	0	25.00 ^B	22.00 ^C	24.75 ^A
	500	17.88 ^D	14.25 ^D	19.00 ^C
	1,000	16.25 ^E	14.50 ^D	19.00 ^C
	1,500	11.00 ^I	12.53 ^E	18.00 ^D
	2,000	13.50 ^G	8.75 ^F	8.38 ^H
ethyl acetate	0	26.25 ^A	24.25 ^B	22.25 ^B
	500	18.00 ^D	2.25 ^H	1.75 ^I
	1,000	16.00 ^E	2.38 ^H	1.88 ^I
	1,500	15.88 ^E	2.13 ^H	1.75 ^I
	2,000	0.00 ^J	2.25 ^H	1.50 ^I
methanol	0	23.13 ^C	27.38 ^A	24.88 ^A
	500	16.13 ^E	2.75 ^H	15.50 ^G
	1,000	14.63 ^F	2.25 ^H	17.38 ^E
	1,500	12.38 ^H	5.38 ^G	16.38 ^F
	2,000	11.88 ^H	4.75 ^G	17.88 ^D
%C.V.	-	3.1	4.25	2.36
LSD.	-	0.7	0.64	0.47

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



ภาพที่ 55 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเหยาจากเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium cupreum* (CMU-08) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด คือ (ก) hexane, (ข) ethyl acetate และ (ค) methanol ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ โดยการหยดลงบนใบทุเรียนและปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) เพื่อยับยั้งการเกิดโรค



ภาพที่ 56 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเหยาจากเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด คือ (ก) hexane, (ข) ethyl acetate และ (ค) methanol ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ โดยการหยดลงบนใบทุเรียนและปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) เพื่อยับยั้งการเกิดโรค



ภาพที่ 57 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเหยาจากเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium aureum* (CMU-19) โดยใช้สารตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด คือ (ก) hexane, (ข) ethyl acetate และ (ค) methanol ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ โดยการหยดลงบนใบทุเรียนและปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) เพื่อยับยั้งการเกิดโรค

การใช้สารสกัดเหยาจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. ทดสอบการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. บนใบทุเรียนพบว่าสารสกัดเหยา ethyl acetate (CMU-13 และ 19) และ methanol (CMU-13) ของเชื้อราสามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบทุเรียนได้ในความเข้มข้นต่ำสุดที่ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร และพบว่าใบทุเรียนที่ทดสอบการเกิดโรคด้วยสารสกัดเหยา ethyl acetate มีลักษณะใบที่เขียวสดและแข็งแรง โดยสารสกัดเหยาดังกล่าวอาจช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตหรือกระตุ้นให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ โดยสอดคล้องกับรายงานของ Soyong *et al.* (2001) ที่รายงานว่า เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถ สร้างสาร Chaetoglobosin C ที่สามารถกระตุ้นให้พืชต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคได้ โดยทำการทดสอบในพืชเช่น แครอท มันฝรั่ง มันเทศ มะเขือเทศ และยาสูบ นอกจากนี้ในรายงานของ Song and Soyong (2017) พบว่าการใช้ *Chaetomium* spp. สามารถ ส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตในพืชหลายชนิดเช่น คენห่า มะเขือเทศ พริก ข้าวโพด ส้ม และมันฝรั่ง ซึ่งในอนาคตจะพัฒนาสารสกัดเหยาที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของพืชให้อยู่ในรูป Nano particles เพื่อใช้กระตุ้นให้ต้นทุเรียนเกิดความต้านทานต่อเชื้อรา *Ph. palmivora* สาเหตุโรครากและโคนเน่าของทุเรียนต่อไป

วิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนครั้งนี้ มุ่งเน้นการคัดเลือกเชื้อราจีส *Chaetomium* spp. เนื่องจากเป็นเชื้อราที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในดิน เศษซากพืชได้ดี และมีรายงานการสร้างสารสำคัญที่สามารถควบคุมเชื้อโรคพืชได้หลายชนิด ในอดีต การคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์มุ่งคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ทำลายเชื้อโรคพืชได้ในปริมาณมาก แต่ไม่ได้คำนึงถึงคุณสมบัติข้ออื่น ดังนั้นเมื่อนำเอาไปใช้ในสภาพแปลงปลูกพืชในธรรมชาติ เชื้อปฏิปักษ์ที่คัดเลือกไว้อย่างดีในห้องปฏิบัติการ ไม่สามารถต่อสู้กับสภาวะแวดล้อมในแปลงปลูกธรรมชาติได้ ทำให้การควบคุมโรคไม่ได้ผล ปัจจุบันการควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพเริ่มประสบความสำเร็จมากขึ้น เนื่องจาก การคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ มิได้มุ่งเน้นเฉพาะความสามารถ ในการควบคุมโรคในห้องปฏิบัติการแต่เพียงอย่างเดียว แต่จะเน้น

การทดสอบในสภาพแปลงปลูกธรรมชาติ และศึกษาคุณสมบัติอย่างอื่นประกอบด้วย เช่น ความสามารถอยู่รอดในธรรมชาติ ความสามารถแข่งขันกับสิ่งมีชีวิตอื่น ดังนั้นจึงให้ความสำคัญ ในการคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งธรรมชาติที่จะนำมาใช้ประโยชน์ สามารถควบคุมเชื้อโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้ได้ค้นพบเชื้อรา *Chaetomium* spp. หลายไอโซเลทที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อราดังกล่าว ทำให้ทราบคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแต่ละไอโซเลท ซึ่งจะนำไปสู่การคัดเลือกใช้หลายไอโซเลทร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์

บทที่ 5

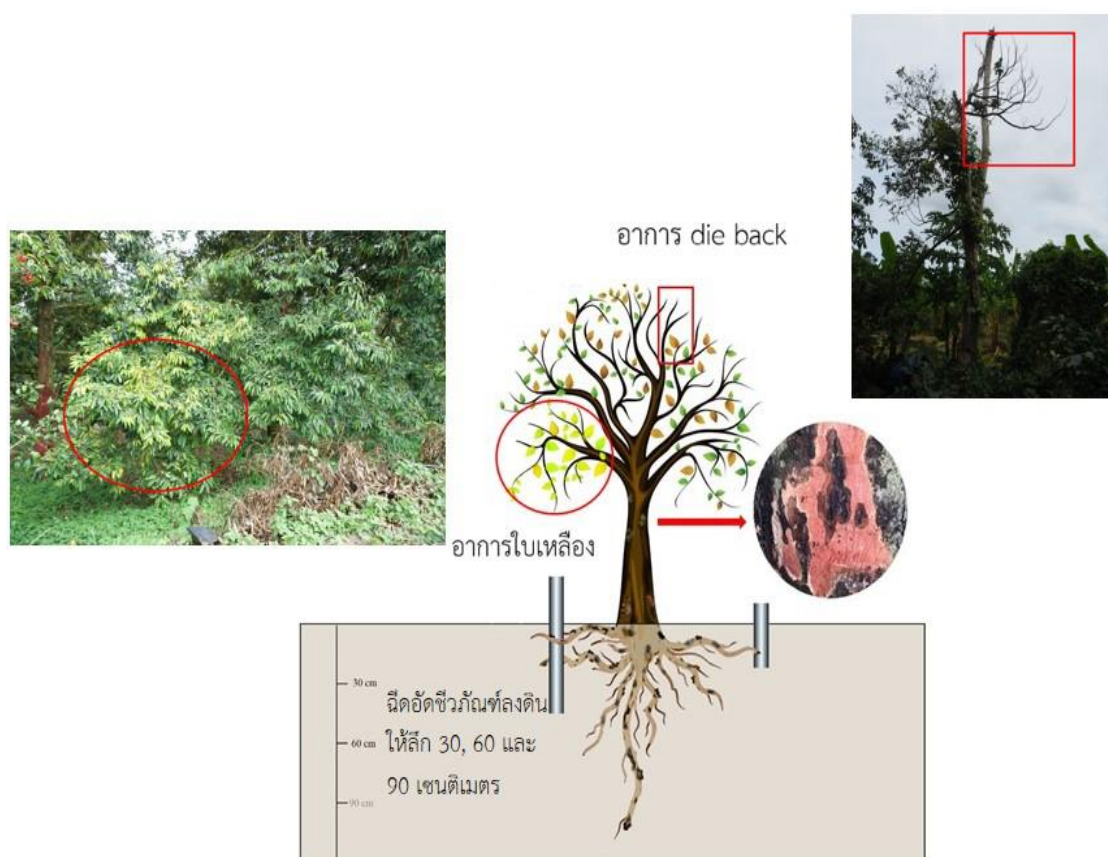
การทดสอบการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกทดลอง

ทำการคัดเลือกสวนของนายสมชาย ชูพันธุ์ บ้านเลขที่ 7 หมู่ 1 ต.ปอน้ำพุ อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี เพื่อใช้ในการทดสอบการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยทางทีมผู้วิจัยได้ชี้แจงแผนการทดลองในพื้นที่ พร้อมทั้งมอบสารชีวภัณฑ์แก่เกษตรกรเพื่อใช้ในงานทดลอง (ภาพที่ 36) โดยคัดเลือกต้นที่จะทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีในการฟื้นฟูด้านทุเรียนออกเป็น 2 กรรมวิธีคือ การจัดการโรคด้วยกรรมวิธี biotechnique และกรรมวิธีการจัดการโรคด้วยสารเคมีตามที่เกษตรกรใช้ แบ่งเป็นกรรมวิธีละ 50 ต้น

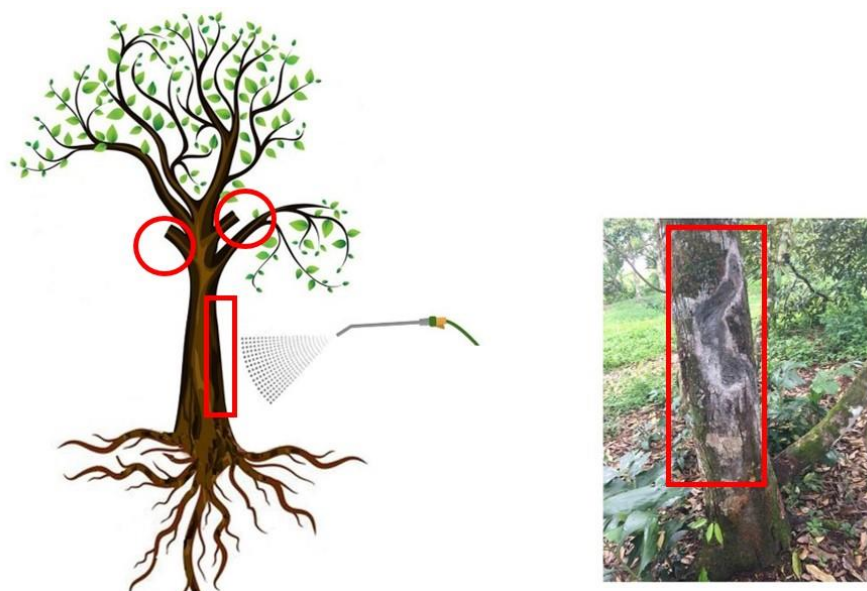


ภาพที่ 58 ทีมผู้วิจัยได้แนะนำวิธีการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดพร้อมทั้งมอบสารชีวภัณฑ์แก่เกษตรกรและสาธิตการใช้สารชีวภัณฑ์
กรรมวิธี biotechnique ได้ทำการจัดการดังนี้

- 1) หว่านปุ๋ยอินทรีย์ได้ทรงพุ่มอัตราส่วน 5 กิโลกรัม ต่อดัน (ต้นทุเรียนอายุ 10 ปีขึ้นไป) ทุก 3 เดือน
- 2) ทำการฉีดเชื้อราคีโตเมียมผสมกับนิวทริคอป และ นโนโคโตซานรอบโคนต้น และฉีดลงดิน ให้ลึก 30, 60 และ 90 เซนติเมตร เพื่อให้เชื้อราคีโตเมียมลงไปกระจายบริเวณรากได้ดีขึ้น เพื่อป้องกันและกระตุ้นความต้านทานของต้นทุเรียนต่อโรครากเน่าโคนเน่า ในกรณีที่ยังไม่พบอาการ
- 3) สังเกตลักษณะอาการของโรคบนต้นทุเรียน คือแสดงอาการใบเหลืองในบางกิ่ง อาการกิ่งแห้งตาย (die back) หรือแผลเน่าบนลำต้น (ภาพที่ 24) ให้ทำการจัดการตั้งเมื่อพบอาการ หากพบอาการเน่าลามขึ้นบริเวณลำต้นและกิ่ง ให้ฉีด หรือทาบริเวณแผลที่เน่าตามกิ่งก้าน หากอาการรุนแรงมากกว่าร้อยละ 50 ทำการตัดกิ่งก้านที่มีอาการโหมออก เพื่อช่วยให้ต้นทุเรียนมีการฟื้นตัวที่ดีขึ้น หากผิวเปลือกต้นทุเรียนบริเวณที่แสดงอาการแผล (เปลือกแตก) ออกจนหมด จากนั้นทาชีวภัณฑ์เข้มข้นลงบนแผล (ภาพที่ 25) ทำการฉีดพ่นทุก 7 วัน อาการปานกลาง ให้ทำทุก 15 วัน และถ้าอาการน้อย ให้ฉีดทุก 20 วัน ถ้าไม่พบการแสดงอาการของโรคให้ทำเดือนละครั้ง เมื่อฉีดครบ 3 ครั้ง จึงตรวจดูอาการ หากต้นทุเรียนมีอาการดีขึ้น สามารถลดอัตราการใช้ลง โดยฉีดทุก 30 วัน รอนต้นทุเรียนฟื้นตัว หากต้นทุเรียนแสดงอาการรุนแรง (ใบเหลืองมากกว่าร้อยละ 50) อาจต้องรอระยะเวลาฟื้นตัวมากกว่า 1 ปี



ภาพที่ 59 ลักษณะอาการของโรครากเน่าทุเรียนแบบต่างๆ ได้แก่อาการรากเน่า ใบเหลืองเฉพาะกิ่ง อาการแห้งตายจากยอด ลำต้นเน่า เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการจัดการด้วยวิธี biotechnique อย่างมีประสิทธิภาพ และแสดงระดับความลึกของการอัดฉีดพ่นชีวภัณฑ์ลงในดินรอบบริเวณราก



ภาพที่ 60 การจัดการโรครากเน่าด้วยวิธี biotechnique ในกรณีโรคมีความรุนแรง โดยแสดงอาการต้นโทรมมากกว่าร้อยละ 50 ของต้น แสดงการตัดกิ่งที่แสดงอาการใบเหลือง (วงกลม) การฉีดพ่นและทาชีวภัณฑ์เข้มข้นบนบริเวณลำต้นที่แสดงอาการเน่า (สี่เหลี่ยม)

ผลการทดลอง

การทดสอบการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกทดลอง

ภายหลังจากการบันทึกผลการรักษาโรคในสวนสาธิตของคุณสมชาย อ.ท่าใหม่ จ. จันทบุรี พบว่า ลักษณะอาการของโรคยังไม่ชัดเจน มีบางต้นที่เห็นการพัฒนาของแผลลดลง คือบริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ำยถูกลำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของแผล จากนั้นทำการเปิดเนื้อไม้ โดยขูดเปลือกไม้บริเวณที่มีการติดเชื้อออก และใช้ชีวภัณฑ์เชื้อใช้คีโตเมียมผง ผสมกับนาโนลิซิเตอร์ กับ ไบโอดีเอสลีก เล็กน้อย ทาบริเวณที่เป็นแผลฉ่ำน้ำ เมื่อสารชีวภัณฑ์แห้งแล้ว จะช่วยในการดูดซับน้ำ และรักษาอาการเน่าของโคนต้น ทำให้เนื้อไม้บริเวณลำต้นแห้ง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตามเดิม (ภาพที่ 61) โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 10 เดือน ต้นทุเรียนในกรรมวิธีไบโอเทคนิคมีต้นที่มีความรุนแรงของโรคในระดับ 3-5 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง ซึ่งในกรรมวิธีการใช้สารเคมีของเกษตรกรมีแนวโน้มของความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น โดยเกษตรกรได้เลือกใช้วิธี biotechnique ในการรักษาต้นที่แสดงอาการ ในกรรมวิธีที่ควบคุมโดยใช้สารเคมี ดังนั้นจึงไม่สามารถนำเสนอระดับการเกิดโรคเปรียบเทียบทั้งสองกรรมวิธีได้ โดยได้ทำการปรับแผนการทดลองเป็นการติดตามผลการรักษาด้วยวิธี biotechnique ในแต่ละต้นที่ทำการรักษา



ภาพที่ 61 การฟื้นฟูต้นทุเรียนโดยการทาชีวภัณฑ์บริเวณที่เป็นโรค

(ก) ลักษณะของเนื้อไม้ได้เปลือกที่แสดงอาการเน่า ซึ่งจะต้องทำการขูดเนื้อไม้ส่วนนอกออก โดยไม่ทำลายชั้น cortex เพื่อให้ยังสามารถฟื้นฟูเนื้อไม้ได้

(ข) ทาผลิตภัณฑ์คีโตเมียมเข้มข้นบริเวณแผลที่ทำการขูดเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ

(ค) ลักษณะแผลบนลำต้นหลังจากการรักษาด้วยวิธี biotechnique เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเนื้อไม้ไม่มีลักษณะแห้ง

(ง) ลักษณะแผลบนลำต้นหลังจากการรักษาด้วยวิธี biotechnique เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าเนื้อไม้รอบแผลมีการเจริญเข้ารัศบริเวณรอบแผล

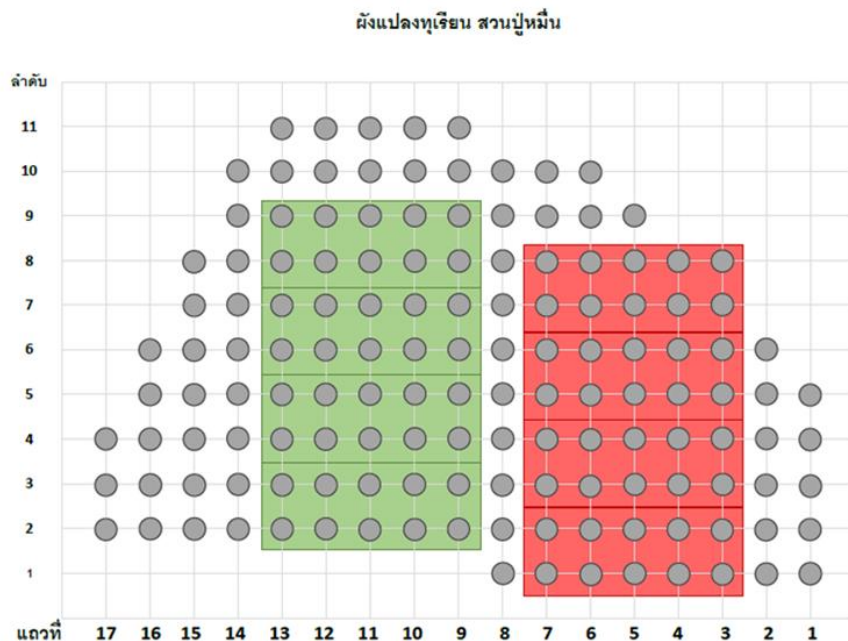
วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกทดลองในสวนของคุณสมชาย อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีบางต้นที่เห็นการพัฒนาของแมลงดลง คือบริเวณที่เป็นโรคจะมีสีของเปลือกเข้มคล้ายถูกน้ำเป็นวง หรือเป็นทางน้ำไหลลงด้านล่าง หรือมีรอยแตกของเปลือก จากนั้นทำการเปิดเนื้อไม้ โดยเปลือกไม้แตก และใช้ชีวภัณฑ์เชื้อใช้คีโตเมี่ยมผง ผสมกับนาโนลิซิเตอร์ กับไบโออินเล็กเล็กน้อย ทาบริเวณที่เป็นแผลฉ่ำน้ำ เมื่อสารชีวภัณฑ์แห้งแล้ว จะช่วยในการดูดซับน้ำ และรักษาอาการเน่าของโคนต้น ทำให้เนื้อไม้บริเวณลำต้นแห้ง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตามเดิม อย่างไรก็ตามการรักษาโรคตามวิธีของโครงการ จะต้องมีการสังเกตอาการของต้นทุเรียนอย่างสม่ำเสมอ และในแต่ละพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน ก็ต้องใช้ปริมาณที่แตกต่างกันด้วย

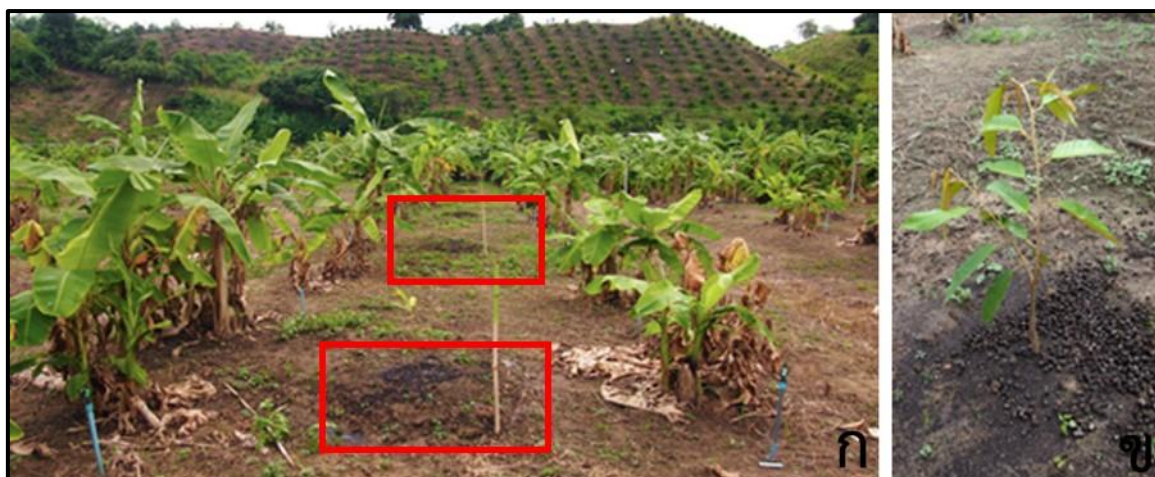
บทที่ 6

การทดสอบการปลูกทุเรียนในพื้นที่ อ. แม่เอย ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ biotechnology

การทดสอบในครั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากเกษตรกรเจ้าของสวนส้มปู้หมื่น นางศศิญาภรณ์ น้อยเรือง ในการให้พื้นที่ในการทดลอง ในพื้นที่ตำบลห้วยป่าซาง อ. แม่เอย จ. เชียงใหม่ เพื่อทดสอบการปลูกทุเรียนด้วยการจัดการแบบ biotechnology และทำการเปรียบเทียบกับการจัดการด้วยสารเคมี โดยทำการปลูกต้นกล้าทุเรียน จะปลูกแทรกระหว่างแถวของต้นกล้วยหอมทอง โดยขุดหลุม ลึก 50 เซนติเมตร กว้าง 50 เซนติเมตร และพูนโคนให้สูงขึ้นมา 25 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างต้นและแถวประมาณ 4 X 5 เมตร โดยใช้ดินที่ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตราส่วน 9:1 ปริมาณ 20 กิโลกรัม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 กรรมวิธี คือ T1 (สีเขียว) = การจัดการโดยชีววิธี และ T2 (สีแดง) = จัดการด้วยสารเคมี กรรมวิธีละ 40 ต้น (ภาพที่ 62 และภาพที่ 63) และทำการประเมินผลการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าในแปลงปลูกอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจากการสังเกตการณ์เจริญเติบโตในช่วง 4 เดือนหลังการย้ายปลูก พบว่าต้นทุเรียนทั้งสองกรรมวิธีไม่แสดงอาการของโรค และยังคงเจริญเติบโตตามปกติ



ภาพที่ 62 แผนผังการปลูกทุเรียนสวนปู้หมื่น สีเขียวคือกรรมวิธี biotechnology (T1) สีแดงคือ กรรมวิธี การจัดการของเกษตรกร (T2)



ภาพที่ 63 ลักษณะการปลูกต้นกล้วยเรียนในแปลงทดสอบ ในพื้นที่สวนปทุมมัน

- (ก) ลักษณะการปลูกกล้วยเรียนระหว่างแถวของต้นกล้วยหอมทอง เพื่อใช้เป็นร่มเงาแก่ต้นทุเรียน โดยบริเวณกรอบสี่เหลี่ยมแสดงบริเวณที่มีการปลูกต้นทุเรียน
- (ข) ลักษณะต้นกล้วยเรียนในกรรมวิธี biotechnology ทำการโรยปุ๋ยอินทรีย์รอบทรงต้น

ผลการทดลอง

การทดสอบการปลูกทุเรียนในพื้นที่ อ. แม่เอย จ. เชียงใหม่

จากการสำรวจแปลงปลูกทุเรียน พบการตายของต้นกล้วยเรียนในทั้งสองกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่ 1 (biotechnology) ตายจำนวน 3 ต้น และกรรมวิธีที่ 2 (การจัดการของเกษตรกร) ตายจำนวน 16 ต้น และพบว่าการตายของต้นกล้วยเรียน เกี่ยวข้องกับการได้รับแสงแดดโดยตรงในฤดูร้อน ซึ่งในช่วงที่ผ่านมา มีอุณหภูมิสูงมาก อีกทั้งต้นกล้วยเรียนมีอายุน้อยจึงไม่สามารถทนต่อสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมในช่วงนั้นๆ ได้ (ภาพที่ 64 และ 65) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากรรมวิธีที่ 1 มีการตายของต้นทุเรียนน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 2 แสดงให้เห็นว่าการทดลองในกรรมวิธีที่ 1 มีแนวโน้มในการจัดการโรคได้ดีกว่า



ภาพที่ 64 ต้นกล้วยเรียนที่ตายระหว่างการทดลอง หลังจากการลงปลูกเป็นเวลา 4 เดือน ในกรรมวิธีที่ 2; (ก) ต้นกล้วยเรียนต้นที่ 2 แถวที่ 6 (ข) ต้นกล้วยเรียนต้นที่ 4 แถวที่ 5 (ค) ต้นกล้วยเรียนต้นที่ 7 แถวที่ 3



ภาพที่ 65 ลักษณะอาการเน่าของต้นกล้าทุเรียนในการทดลอง พบอาการเน่าบริเวณโคนต้นระดับดิน หลังจากการลงปลูกเป็นเวลา 6 เดือน ในกรรมวิธีที่ 2; (ก) ต้นกล้าทุเรียนต้นที่ 3 แถวที่ 7 (ข) ต้นกล้าทุเรียนต้นที่ 5 แถวที่ 4 (ค) ต้นกล้าทุเรียนต้นที่ 8 แถวที่ 3

เมื่อทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของกล้าทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ.2560 ถึงสิงหาคม พ.ศ.2561 อายุทุเรียน 7 เดือน พบว่าต้นทุเรียนในกรรมวิธีที่ 1 มีการตายของต้นทุเรียน 3 ต้น คิดเป็นร้อยละ 7.5 และกรรมวิธีที่ 2 ตาย 16 ต้น คิดเป็นร้อยละ 40 ซึ่งสรุปผลการทดลองในเบื้องต้นได้ว่าวิธีการปลูกต้นกล้าทุเรียนหมอนทองในพื้นที่สวนปทุมมันด้วยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับชีววิธี และการคลุมโคน สามารถช่วยให้ต้นกล้ารอดชีวิตได้มากกว่าการปลูกโดยใช้ปุ๋ยเคมีตามรูปแบบของเกษตรกร และเมื่อสังเกตลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้า พบว่าต้นที่อยู่ใต้ร่มเงาของต้นกล้วย ใบจะแผ่และตั้ง การเจริญของยอดดีกว่าต้นที่โดนแสงแดดเป็นเวลานาน จึงได้ทำการกางมุ้งตาข่ายเพิ่มให้ต้นกล้าทุเรียนที่อยู่กลางแจ้ง เนื่องจากต้องการพรางแสงให้ต้นกล้าทุเรียนที่ปลูกในพื้นที่กลางแจ้งเพื่อลดการได้รับแสงแดดโดยตรง เพราะแสงแดดมีผลทำให้ยอดใหม่ที่แตกออกมามีอาการไหม้ จึงกางมุ้งตาข่ายไว้จนกว่าจะพ้นช่วงระยะวิกฤตของต้นกล้าทุเรียนจึงนำมุ้งตาข่ายออก โดยได้ทำการกางมุ้ง 2 แบบ คือทรงปิระมิด บังแสงรอบทิศทาง แต่มีปัญหาในด้านการให้น้ำแบบสปริงเกอร์ และอากาศไม่ระบาย จึงปรับการกางมุ้งเป็นแบบบังแสงเฉพาะด้านบนและด้านทิศใต้ของต้น (ภาพที่ 66) หลังจากทำการปลูกต้นกล้าทุเรียนเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าต้นทุเรียนสามารถเจริญเติบโตได้ดีตามปกติ (ภาพที่ 67)



ภาพที่ 66 การกางมุ้งตาข่ายเพื่อเพิ่มร่มเงาแก่ทุเรียนในกรรมวิธีที่ 1; (ก-ค) การกางมุ้งตาข่ายแบบกระโจมปิระมิด สามารถป้องกันแสงได้รอบด้าน (ง) การบังแสงด้านบนและทิศใต้ของต้น



ภาพที่ 67 การเจริญของต้นทุเรียนหลังจากการปลูกในแปลงทดลองเป็นเวลา 12 เดือน ในกรรมวิธีที่ 1; (ก) ต้นทุเรียนต้นที่ 2 แถวที่ 13 (ข) ต้นทุเรียนต้นที่ 4 แถวที่ 12 (ค) ต้นทุเรียนต้นที่ 3 แถวที่ 10

บทสรุป

การทดสอบการปลูกทุเรียนในพื้นที่ อำเภอมะนวย จังหวัดเชียงใหม่ โดยไม่ใช้สารเคมี พบว่าการใช้ biotechnology ตามคำแนะนำของโครงการมีการตายของต้นกล้าทุเรียนเพียงร้อยละ 10 แต่พบการตายของต้นกล้าทุเรียนที่จัดการโดยใช้สารเคมีเป็นหลักถึงทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าการทดลองในกรรมวิธี biotechnology สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดี โดยเกษตรกรทำการปลูกต้นกล้าใหม่แทนต้นเดิมที่ตาย และทำการรอกันหลุมด้วยปุ๋ยอินทรีย์และเชื้อราคีโตเมียมแบบเชื้อสด ที่เพราะเลี้ยงหัวเชื้อจากโครงการ

บทที่ 7

การทดสอบแนวทางการใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. เชื้อสดในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ในสภาพโรงเรือน

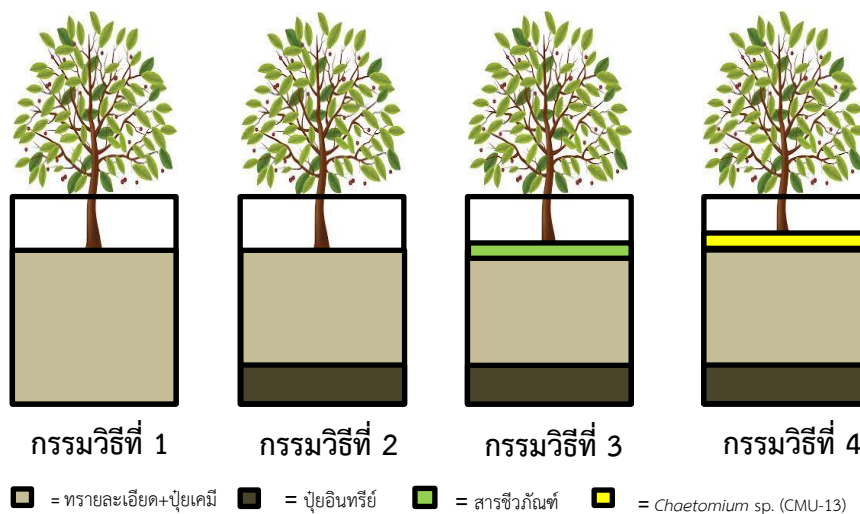
การเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค ในอัตรา 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ตามวิธีการของ Chen *et al.* (1987) ในการเตรียมปลูกต้นกล้าทุเรียนจะใช้ต้นกล้าทุเรียนที่มีอายุ 6 เดือนโดยปลูกใน ดิน : ปุ๋ยอินทรีย์ : แกลบดิบ ในอัตราส่วน 8:1:1 (800:100:100 กรัม) จากนั้นปลูกเชื้อสาเหตุโรคในกระถางที่ปลูกต้นกล้าทุเรียนไว้แล้วเป็นเวลา 1 เดือน และทำการเติมสปอร์ของ เชื้อรา *Chaetomium* spp. (CMU-13) โดยเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ราดโคนต้นกล้าทุเรียนทุกๆ 15 วัน เป็นเวลา 2 เดือน ในการทดสอบแบ่งการทดลองเป็น 4 กรรมวิธี (ภาพที่ 68) กำหนดกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ โดยใช้วัสดุปลูกดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ทรายละเอียด + ปุ๋ยเคมี (ชุดควบคุม) และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 2 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 3 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + ชีวภัณฑ์ Ketomium® และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 4 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + เชื้อรา *Chaetomium* spp. (CMU-13) ในรูปแบบเชื้อสด (โรยผิวดิน) และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค



ภาพที่ 68 ไดอะแกรมการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13) ในการควบคุมโรครากและโคนเน่า สาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ผลการทดลอง

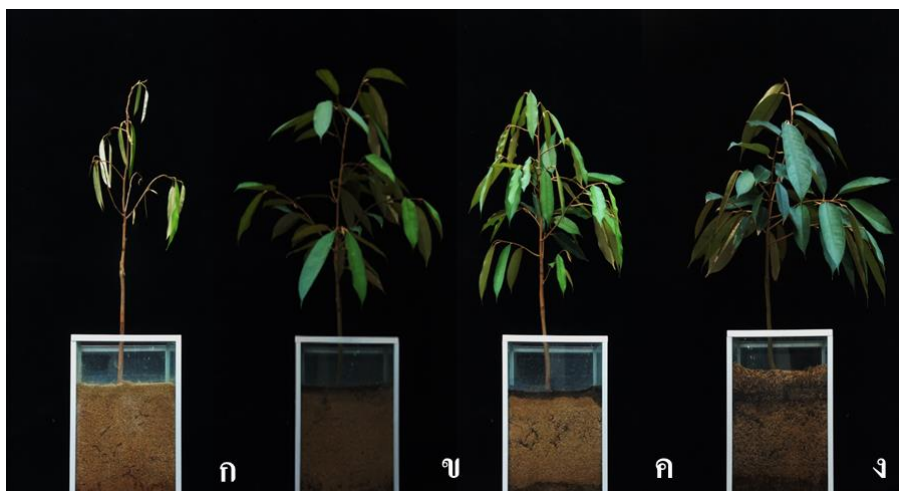
จากการทดลองการใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยใช้ต้นกล้าทุเรียนอายุประมาณ 8 เดือน ในการทดสอบ พบว่า เมื่อทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนลงไปเป็นเวลา 2 เดือน ในกรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าทุเรียนได้แสดงอาการต้นโทรมใบสลด ผิวใบไม่มันวาวไม่พบการแตกยอดใหม่ ลำต้นแคระแกร็น และพบอาการยอดตาย (died black) ใบร่วง และ

ตายในที่สุด (ภาพที่ 69ก) เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคพบว่าอยู่ในระดับที่ 4 (ตารางที่ 9) ในกรรมวิธีที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นกล้าทุเรียน พบการแตกยอดอ่อน และใบที่แตกใหม่มีลักษณะของผิวใบเป็นสีเขียวอ่อน ผิวใบไม่มันวาว (ภาพที่ 69ข) เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคพบว่าอยู่ในระดับ 1 (ตารางที่ 9) กรรมวิธีที่ 3 เป็นการป้องกันควบคุมการเกิดโรคโดยใช้ชีวภัณฑ์ Ketomium® พบว่ามีการแตกยอดเพิ่มขึ้นแต่ลักษณะใบใหม่ไม่สมบูรณ์ แสดงอาการขาดธาตุ และใบแก่ร่วงง่าย (ภาพที่ 69ค) เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคพบว่าอยู่ในระดับ 2 (ตารางที่ 9) และในกรรมวิธีที่ 4 การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13) โรยบริเวณโคนต้นกล้าทุเรียนพบว่า ต้นกล้าทุเรียนมีการเจริญเติบโตที่ดี มีความสมบูรณ์ของใบและยอดที่แตกใหม่ ขั้วใบแข็งแรง ใบสีเขียวเข้มมันวาว (ภาพที่ 69ง) เมื่อทำการประเมินความรุนแรงของโรคพบว่าอยู่ในระดับที่ 1 (ตารางที่ 9) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของระบบรากของต้นทุเรียนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 มีการเจริญของราก และแตกรากใหม่ออกมามากกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ตารางที่ 11 ระดับความรุนแรงของโรคของแต่ละกรรมวิธีหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 2 เดือน

กรรมวิธี	การประเมินผล	
	ความโทรมทรงพุ่ม (%)	ระดับความรุนแรงของโรค
1. ทรายละเอียด + ปุ๋ยเคมี (ชุดควบคุม) และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค	92.50 ^A	4
2. ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค	25.00 ^C	2
3. ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + ชีวภัณฑ์ Ketomium® และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค	45.00 ^B	3
4. ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + เชื้อราปฏิปักษ์ <i>Chaetomium</i> sp. (CMU-13) ในรูปแบบเชื้อสด (โรยผิวดิน) และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค	5.00 ^D	1
% C.V.	25.42	-
LSD.	18.97	-

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



ภาพที่ 69 ต้นกล้าทุเรียนหลังการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่า เป็นเวลา 2 เดือน

- (ก) กรรมวิธีที่ 1 ทรายละเอียด + ปุ๋ยเคมี (ชุดควบคุม) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ข) กรรมวิธีที่ 2 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ค) กรรมวิธีที่ 3 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + ชีวภัณฑ์ Ketomium® และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ง) กรรมวิธีที่ 4 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + เชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13) ในรูปแบบเชื้อสด (โรยผิวดิน) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค



ภาพที่ 70 ความสมบูรณ์ของรากต้นกล้าทุเรียนหลังการปลูกเชื้อรา *Phytophthora* spp. (P-05) สาเหตุโรครากและโคนเน่า เป็นเวลา 2 เดือน

- (ก) กรรมวิธีที่ 1 ทรายละเอียด + ปุ๋ยเคมี (ชุดควบคุม) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ข) กรรมวิธีที่ 2 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ค) กรรมวิธีที่ 3 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + ชีวภัณฑ์ Ketomium® และปลูกเชื้อสาเหตุโรค
 (ง) กรรมวิธีที่ 4 ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + เชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* spp. (CMU-13) ในรูปแบบเชื้อสด (โรยผิวดิน) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าต้นกล้าทุเรียนในสภาพโรงเรือน พบว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์สามารถลดความรุนแรงของโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมี ซึ่งเป็นการสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช เพื่อด้านทานต่อโรคได้ดีขึ้น และพบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Chaetomium* ไอโซเลท (CMU-13) ที่คัดเลือกได้จากการศึกษาครั้งนี้ในรูปเชื้อสด มีประสิทธิภาพได้เท่ากับชีวภัณฑ์ *Ketomium*® ซึ่งได้รับการพัฒนาในรูปการค้า ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อให้เกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อคิตโตเมียมใช้เองได้ ในรูปเชื้อสด โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้แกลบเป็นวัสดุเพาะ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเปรียบเทียบวัสดุเพาะที่หลากหลาย เพื่อให้เกษตรกรแต่ละพื้นที่หาได้ง่าย รวมทั้งวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการทำหัวเชื้อ เพื่อให้เชื้อสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีเมื่อเกษตรกรนำไปเพิ่มปริมาณต่อ

บทที่ 8

สรุป

จากการสำรวจสวนทุเรียนของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ และเก็บตัวอย่างดิน ราก เปลือกไม้เพื่อนำมาแยกเชื้อสาเหตุของโรคจาก 5 สวน ในพื้นที่ อำเภотаใหม่ อำเภอเขาธิชฎฎ จ. จันทุบุรี อำเภอบพระ จ.ตาก อำเภอลับแล จ.อุตรดิตถ์ และอำเภอ เวียงเชียงรุ้ง จ. เชียงราย พบว่าต้นทุเรียนในทุกสวนแสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่า แต่แตกต่างกันตามความรุนแรงของโรค เมื่อทำการแยกเชื้อสาเหตุ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเบื้องต้นพบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *Pythium delicense*, *P. cucurbitacearum*, *P. vexans*, *Phytophthora cinnamomi* และ *Ph. palmivora* แสดงให้เห็นว่าสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในประเทศไทยมีมากกว่าหนึ่งชนิด

จากการทดสอบการใช้ไบโอเทคนิค (Biotechnology) ในการรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนในสภาพแปลงปลูกทดลองในสวนของคุณสมชาย อำเภотаใหม่ จังหวัดจันทุบุรี ประกอบด้วยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ (การทดลองครั้งนี้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม.) ได้ทรงพุ่มอย่างต่อเนื่อง เพื่อปรับสภาพดินร่วนซุย มีโครงสร้างโปร่ง อุ่นน้ำและธาตุอาหารได้ดี ดินมีสภาพเป็นกลาง เพิ่มจุลินทรีย์พร้อมแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ต่างๆ ให้กับดินและสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์อื่นๆในธรรมชาติ ซึ่งจะช่วส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี และมีความแข็งแรง ทนทานต่อการเข้าทำลายของโรคทางดิน จากนั้นทำการใช้ผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมี่ยม นิวัทธิครอบ และ นาโนไคโตซาน การกระตุ้นความต้านทานของพืชและลดปริมาณของเชื้อราสาเหตุ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้สารเคมี พบว่าการใช้ไบโอเทคนิคสามารถช่วยรักษาอาการรากเน่าโคนเน่าของต้นที่เรียนที่เป็นโรคได้ดีกว่าการใช้สารเคมี ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบกับการปลูกกล้าทุเรียนในพื้นที่ อำเภอแม่เอย จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์และผลิตภัณฑ์เชื้อราคีโตเมี่ยม รองกันหลุมก่อนปลูก และเติมอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์นิวัทธิครอบ และ นาโนไคโตซาน พบว่ามีการตายของต้นกล้าทุเรียนเพียงร้อยละ 10 แต่พบการตายของต้นกล้าทุเรียนที่จัดการโดยใช้สารเคมีเป็นหลักร้อยละ 100 และได้จัดตั้งแปลงทดลองในอำเภотаใหม่ จังหวัดจันทุบุรี เป็นศูนย์การเรียนรู้การจัดการโรคไฟทอปทราทุเรียน และส่วนแปลงทดลองอำเภอแม่เอยได้มีการขยายพื้นที่ปลูกทุเรียนเพิ่ม โดยยังคงใช้ไบโอเทคนิคตามคำแนะนำของโครงการในการจัดการแปลงปลูกทุเรียนใหม่ นอกจากนั้นโครงการได้จัดการอบรมเรื่อง “การจัดการโรคไฟทอปทราของทุเรียนอย่างยั่งยืน” แก่เกษตรกร และผู้สนใจจำนวน 2 ครั้ง ในพื้นที่อำเภอมะขาม และอำเภотаใหม่ จังหวัดจันทุบุรี โดยให้ความรู้เกษตรกรเรื่องผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการสารเคมีทางการเกษตรอย่างไม่เหมาะสม หลักการแก้ปัญหาสภาพความเสื่อมโทรมของดิน การเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน และแนวทางการใช้จุลินทรีย์ปฏิบัติเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคและการกระตุ้นความต้านทานโรคแก่ต้นทุเรียน โดยจัดทำต้นฉบับคู่มือ “การจัดการโรคไฟทอปทราของทุเรียนอย่างแม่นยำและยั่งยืน” เพื่อใช้ในการเผยแพร่องค์ความรู้จากโครงการแก่เกษตรกรต่อไป ซึ่งถือว่าโครงการประสบความสำเร็จ เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของโครงการที่ตั้งไว้ อย่างไรก็ตามทางโครงการได้ทำการคัดเลือกเชื้อ

ปฏิบัติที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนเพิ่มเติม เพื่อเป็นทางเลือกในการพัฒนาให้เกษตรกรสามารถต่อเชื้อใช้ในรูปเชื้อสด โดยในการศึกษารั้งนี้ใช้แกลบเป็นวัสดุเพาะ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเปรียบเทียบวัสดุเพาะที่หลากหลาย เพื่อให้เกษตรกรแต่ละพื้นที่หาได้ง่าย รวมทั้งวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการทำหัวเชื้อ เพื่อให้เชื้อสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีเมื่อเกษตรกรนำไปเพิ่มปริมาณต่อไป

ภาคผนวก

ประมวลภาพการจัดประชุมร่วมกับเกษตรกรผู้ปลูกทุเรียน ในพื้นที่อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี ใน วันที่ 18 มิถุนายน พ.ศ. 2562 เกษตรกรเข้าร่วม 12 คน และเกษตรกรในพื้นที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี วันที่ 26 กรกฎาคม พ.ศ.2562 ณ สหกรณ์การเกษตรท่าใหม่ หมู่ 1 ถนนสุขุมวิท ตำบลเขาบายศรี อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี 22120 เกษตรกรเข้าร่วม 50 คน



ภาพที่ 71 ผู้เข้าร่วมฟังบรรยาย โครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืน จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี ณ สหกรณ์ท่าใหม่ จำกัด จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 72 ศ.ดร.ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ให้คำแนะนำต่อเกษตรกรในการแก้ปัญหาโรครากเน่าทุเรียน



ภาพที่ 73 เกษตรกรผู้เข้าร่วมฟังบรรยาย ดูเชื้อรา *Chaetomium* spp. ที่ขึ้นบนแกลบดิบ



ภาพที่ 74 สำรวจต้นทุเรียนที่เป็นโรค และตรวจดูลักษณะอาการโรคไฟทอปโทราทุเรียน



ภาพที่ 75 สำรวจอาการโรคไฟทอปโทราทุเรียน บริเวณลำต้นของทุเรียน



ภาพที่ 76 คณะทีมวิจัยโครงการ การจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืนจังหวัด เชียงใหม่ และจังหวัดจันทบุรี

คู่มือการจัดการโรคไฟทอปโทราของทุเรียนอย่างแม่นยำ และยั่งยืน



บทนำ

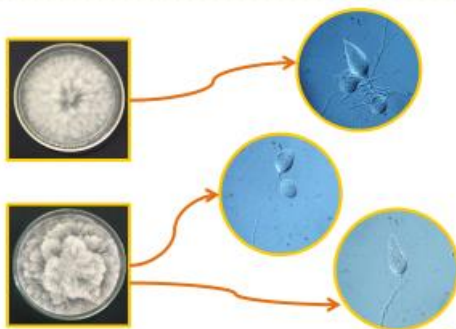
ทุเรียน (*Durio zibibhus* L.) เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดใหญ่ เจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในเขตร้อนที่มีสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 22-32 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 2,000 มิลลิเมตรต่อปี การกระจายตัวของฝนดี ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงประมาณ 75-85 % ดินมีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ประมาณ 5.5-6.5 ซึ่งสภาพดังกล่าวสอดคล้องกับพื้นที่เขตร้อนของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยแหล่งปลูกหลักอยู่ที่ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย และเวียดนาม สำหรับประเทศไทยส่งออกผลผลิตทุเรียนประมาณ 10 % ของผลผลิตทั้งหมดได้ในประเทศ แต่คิดเป็นปริมาณมากถึง 80 % ของผลผลิตส่งออกทุเรียนทั้งหมด ถึงแม้ว่าการผลิตทุเรียน พบเนื้อที่การปลูกทุเรียนในปี 2560 เพิ่มขึ้นถึงสี่เท่าตัวก็ได้รับผลกระทบต่อการปริมาณการผลิตทุเรียนโดยรวมจากสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ที่สามารถเข้าทำลายทุเรียนได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทุกส่วนของต้นทุเรียน โดยทำให้เกิดอาการรากเน่าโคนเน่า ผลเน่า ใบไหม้ กิ่งแห้งตาย โดยต้นที่แสดงอาการอย่างรุนแรงเหล่านี้ เกษตรกรจะทยอยตัดโค่นทิ้งและทำการปลูกซ่อมใหม่ จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า โรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนนับว่าเป็นโรคที่สำคัญที่สุดที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของทุเรียนเป็นอย่างยิ่ง การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคดังกล่าวมักไม่ได้ผล เนื่องจากมีการใช้อย่างไม่เคร่งครัดจึงก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้าง และเกิดการต่อต้านสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว ด้วยเหตุนี้ การวางแผนการป้องกันและรักษาโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนด้วยวิธีชีววิธีไปจนถึงชีวภัณฑ์แบบผสมผสาน ด้วยการปรับปรุงดินโดยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของทุเรียน การใช้วัสดุคลุมดินเพื่อรักษาความชื้นในดิน และช่วยในการแตกรากของทุเรียน การใช้สาร elicitor ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในต้นทุเรียน การใช้สิ่งมีชีวิตปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อรา *Ph. palmivora* และการใช้เชื้อราในการควบคุมแมลงและปลวกทุเรียน จึงนับว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้การแก้ปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าเป็นไปอย่างครบวงจรและยั่งยืนต่อไป

1



เชื้อรา Phytophthora

เชื้อรา *Phytophthora* เป็นสาเหตุโรคของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เชื้อรานี้มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคที่ระงับการเจริญเติบโต และระยะต้นไม่ใหญ่ โดยก่อให้เกิดอาการต่างๆ ได้แก่ root rot, collar rots, stem cankers, leaf blights และ fruit rot โดยเฉพาะในเชิงปลูกผลของจากความเสียหายอย่างรุนแรงได้ด้วยการก่อให้เกิด seedling blight ทำให้พืชตายได้ เชื้อรานี้มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ปัจจุบันพบแพร่ระบาดไปทั่วโลก เนื่องจากทำลายพืชมากกว่าหนึ่งชนิดและสามารถอาศัยในดินโดยเชื้อรานี้สามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ภายใน 7 ชั่วโมง และสามารถเข้าทำลายพืชได้ 100% ภายใน 17 ชั่วโมง โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราจะอยู่ที่ 23.0-29.0 องศาเซลเซียส โดยช่วงอุณหภูมิที่สูงสุดจะอยู่ที่ 11.5 องศาเซลเซียสและต่ำสุดอยู่ที่ 33.0 องศาเซลเซียส เชื้อรา *Phytophthora* มีพืชอาศัยจำนวนมากนับพันชนิด ทั้งที่เป็นไม้ผลและพืชไร่ เช่น ทุเรียน กล้วยไม้ สับปะรด ลิ้น ฝรั่ง และมะพร้าว เป็นต้น (Drenth and Guest, 2004)



2



อาการโรครากเน่าทุเรียน



ภาพที่ 1 ส่วนทุเรียนในพื้นที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (สวนคุณสมชาย)

- ลักษณะต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- โคนและลำต้นทุเรียนเน่า มีเมล็ดดำและมีของเหลวซึมไหลออกมา



ภาพที่ 2 ส่วนทุเรียนในพื้นที่อำเภอบพระ จังหวัดตาก

- ต้นทุเรียนแสดงอาการต้นไหม้แต่ยังคงให้ผลผลิตได้
- ลำต้นทุเรียนแสดงอาการเปลือกแตกยางไหล

3





อาการโรครากเน่าทุเรียน



ภาพที่ 3 สวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอเขาชะเมา จังหวัดชลบุรี

- ก. ลักษณะของต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- ข. ลักษณะทรงพุ่มต้นทุเรียนที่แสดงอาการปกติแต่เมื่อขุดดูรากพบว่า รากเน่า
- ค. ลักษณะทรงพุ่มต้นทุเรียนที่เริ่มแสดงอาการตายจากยอด ใบยอดเหลือง เรียวเล็ก
- ง. บริเวณโคนต้นและลำต้น พบแมลงน้ำตาลเข้ม ชุ่มน้ำ ซึ่งเป็นอาการที่เรียกว่าเปลือกแตกยางไหล

4



อาการโรครากเน่าทุเรียน



ภาพที่ 4 สวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

- ก. ลักษณะต้นทุเรียนแสดงอาการตายจากยอด (die back)
- ข. บริเวณลำต้นทุเรียนพบแมลงน้ำตาลเข้มคล้ายถูกน้ำร้อนลวกเป็นวง บริเวณแตกของ แมลงพบเชื้อรา *Phytophthora* sp. และ เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ร่วมทำลายร่วมกัน
- ค. ลักษณะผลทุเรียนที่เน่าเนื่องจากถูกเชื้อรา *Phytophthora* sp. เชื้อราทำลาย



ภาพที่ 5 สวนทุเรียนในพื้นที่อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย

- ก. ลักษณะต้นทุเรียนที่มีลักษณะต้นสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการของโรค die back อีกทั้งยังติด ผลจำนวนมาก ผลทุเรียนมีขนาดใหญ่
- ข. เมื่อขุดดูดินรอบโคนต้น พบว่าโคนต้นทุเรียนที่อยู่ระดับผิวดินแสดงอาการเน่า อยางใหญ่
- ค. รากทุเรียนแสดงอาการเน่าเป็นสีน้ำตาลเข้ม รากถอดปลอก มีกลิ่นเหม็น

5



เชื้อรา *Chaetomium* spp.

Chaetomium มีรายงานการค้นพบครั้งแรกในปี 1817 โดย Gustav Kunze เป็นเชื้อราพวก saprophytes ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes สามารถเจริญได้ดีในเศษซากพืชและสัตว์ที่เน่าเปื่อยผุพัง และอินทรีย์วัตถุต่างๆ มีการขยายพันธุ์โดยใช้สปอร์ และทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี โดยพบว่า *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช ได้แก่ *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. โดยได้มีการทดลองการควบคุมโรคทั้งในพืชผักและไม้ผล พบว่าสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา และช่วยให้การเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตดีกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและยังมีคุณสมบัติป้องกันโรคในลักษณะ broad spectrum mycofungicide ได้ด้วย



เชื้อรา *Chaetomium* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง โดยการสร้างสารของมึงมีฤทธิ์ยับยั้งชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวอาจจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำให้ตายได้

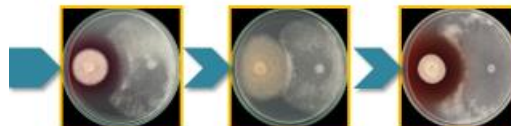


6

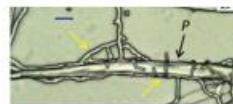


เชื้อรา *Chaetomium* spp.

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Chaetomium* spp. ควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนใบทุเรียน (detached leave technique) โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Chaetomium* spp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* sp.



การเป็นปรสิตของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. จะเข้าไปอุดตันในช่องเชื้อสาเหตุโรค และทำการแทงผ่านเส้นใยเข้าไปในเนื้อเยื่อสาเหตุโรค จากนั้นจะทำการปล่อยสารปฏิชีวนะทำให้เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคเกิดความผิดปกติ และได้รับ เอนไซม์เซลลูโลสทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคแตกสลายอีกด้วย



การพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการทำลายเชื้อ *Phytophthora* sp.

7



เชื้อรา *Chaetomium* spp.

มีคุณสมบัติ ดังนี้

1. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะออกมาฆ่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืชต่างๆ ได้
2. เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้
3. สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีอินทรีย์วัตถุ (ปุ๋ยอินทรีย์) ซึ่งจะเจริญได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค มีผลให้ลดปริมาณเชื้อที่จะก่อเกิดโรคได้
4. สามารถสร้างสารกระตุ้นให้พืชเกิดภูมิคุ้มกันโรคได้ด้วยคุณสมบัติ 4 ประการดังกล่าว ซีโดเมียม จึงสามารถป้องกันและรักษาโรคพืช ต่างๆ ได้เป็นอย่างดี

" ซีโดเมียม " มีผลต่อการป้องกันโรคที่ระบาด เช่น โรครากเน่า โรคเหี่ยว ใช้ในขณะที่ยังไม่เป็นโรค และสามารถรักษาโรคได้ (พืชเป็นโรคแล้ว กำลังแสดงอาการโรค เช่น รากเน่า เน่าคอดิน เป็นต้น กรณีนี้หากรากเน่าหมดแล้วก็ไม่สามารถช่วยต้นพืชได้ เพราะพืชกำลังจะตาย)

8



เชื้อรา *Chaetomium* spp.

" สปอร์ซีโดเมียม "

สามารถปลดปล่อยหรือขับถ่ายสารปฏิชีวนะออกมาซึมเข้าสู่เซลล์พืช ไปทำลายเชื้อสาเหตุโรคที่กำลังเข้าทำลายเซลล์พืช หรือปกป้องผิวพืชจากการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคที่มากับ ลม ผ่น แผลง เป็นต้น จากนั้น " ซีโดเมียม " ส่วนหนึ่งอาจจะตกลงไปสู่ดินและเจริญเติบโตจะมีผลให้สามารถรักษาโรคได้ โรคจะไม่ลุกลามต่อไปในกรณีที่เกิดพ่นสปอร์ซีโดเมียมเพื่อรักษาโรคพืช (พืชเป็นโรคแล้ว เช่น เปลือกเน่า ใบไหม้ ใบจุด ช่อคอกเน่า ผลเน่า เป็นต้น จะปรากฏเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เป็นต้น)

ดังนั้นการใช้ ซีโดเมียม ชนิดผงละลายน้ำฉีดพ่นเพื่อรักษาโรค จึงจำเป็นต้อง ฉีดพ่นเป็นระยะๆ ทุก 3 วัน 5 วัน 7 วัน หรือ 10 วัน ขึ้นอยู่กับการสังเกตหลังการฉีดพ่นว่าโรคหยุดระบาดหรือยัง ในกรณีป้องกันกำจัดโรค ใช้ทุก 15 วัน หรือเดือนละครั้ง

** ซีโดเมียมสามารถใช้ป้องกันและรักษาโรคพืชได้และเห็นผลทันทีที่ใช้ แต่ต้องให้ถูกวิธี **

9



ซีโดเมียม ปลอดภัยหรือไม่ ?

ซีโดเมียม ไม่เป็นพิษและไม่เป็นอันตรายต่อพืช สัตว์เลี้ยง และสิ่งแวดล้อม จากการวิจัย พบว่า ไม่มีสัตว์ทดลองตาย และสภาพผิวหนัง อวัยวะภายใน เช่น ตับ ไต หัวใจ ม้าม ปอด มีสภาพปกติ ซึ่ง ค่าความ เขียวค่า LD50 ได้เท่ากับ 42,500 มก.ต่อ กก.

การใช้ซีโดเมียม.....

สามารถที่จะป้องกันกำจัดโรคพืชได้อย่างไร ?

" ซีโดเมียม " สามารถใช้แก้ปัญหาการื้อยาของโรคพืชที่เกิดจากการใช้สารเคมีหรือยาฆ่าเชื้อราอย่างต่อเนื่องของเกษตรกร เนื่องจากสามารถใช้รักษาโรคได้ และเป็นการป้องกันโรคในระยะยาว ช่วยปรับสภาพดินให้ดินมีคุณสมบัติในการป้องกันโรคได้

10



ประโยชน์ของ ซีโดเมียม ในการใช้เป็นสารป้องกันโรคพืช

- รักษา พื้นฟูระบบนิเวศน์และสิ่งแวดล้อม ไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม
- ป้องกันและรักษาโรคพืชได้หลายชนิด เห็นผลทันทีสามารถใช้ทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชได้
- สามารถชักนำให้พืชเกิดโรคภูมิคุ้มกันโรคได้
- ใช้เป็นองค์ประกอบหนึ่งของการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน เพื่อผลิตพืชผัก ไม้ผลปลอดสารพิษและพืชอินทรีย์

** จากการวิจัยและพัฒนา พบว่า ซีโดเมียมมีความทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด จึงสามารถใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด และต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในดินในพืชได้ และจากการวิจัยพบว่าสามารถใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีได้

11



การผลิตเชื้อสด

▶ การเตรียมเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในรูปแบบเชื้อสด

นำแอลกอฮอล์ 50 กรัม ตยน้ำ 500 ml (w/v) ไปฆ่าเชื้อในหม้อ Autoclave ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้วอุณหภูมิ 121 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที



ใช้ culture disc วางเชื้อ *Chaetomium* spp. ลงไปในแอลกอฮอล์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 1 เดือน



12



การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. เชื้อสด ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน

▶ โดยใช้วัสดุปลูกดังนี้

ทรายละเอียด + ปุ๋ยอินทรีย์ + เชื้อรา *Chaetomium* spp. สด



หลังจากนั้นย้ายกล้าทุเรียนลงปลูกเป็นเวลา 1 เดือน โดยประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า โดยดูจากการเจริญเติบโตของต้นทุเรียน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ความสมบูรณ์ของราก, ความสูงของต้น และลักษณะทรงพุ่ม)



★ การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในรูปแบบเชื้อสด

ใช้ *Chaetomium* spp. รองก้นหลุมก่อนปลูก

ใช้คลุมโคนต้นเพื่อรักษาความชื้นให้สม่ำเสมอ

กรองเอาน้ำเลี้ยงแอลกอฮอล์ เพื่อนำมาฉีดพ่น

13



ชีวภัณฑ์ที่พัฒนาแล้ว



คีโตเนียม (KETONIUM)

ประโยชน์ : ใช้แก้ปัญหาของพืชที่ถูกเชื้อราทำลาย ทำให้นต้นอ่อนตาย และย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ ช่วยให้เกิดจุลินทรีย์ดีในระบบรากใหม่ขยายตัวได้ดี

อัตราการใช้ : 10-20 กรัม ค่อน้ำ 20 ลิตร

ยาฆ่าแก้ว (LA-GUA)

ประโยชน์ : กำจัดโรคแคงเกอร์ที่รุนแรงของทุเรียน โรคเราน้ำค้าง โรคแป้งและแมลง เพลี้ยไฟ โรคแคงเกอร์

อัตราการใช้ : 50 ซีซี ค่อน้ำ 20 ลิตร ใช้ร่วมกับชีวภัณฑ์ทุกชนิดได้ กรณีโรคแคงเกอร์ระบาด ฉีดทุก 3 วัน 3 ครั้ง แล้วเว้นระยะการฉีดให้ห่างขึ้น กรณีป้องกันได้ฉีดเดือนละครั้ง



นาโนไบโอดีซาน (Nano-Biochitosan)

สารออกฤทธิ์ : อนุภาคนาโนไคโตซาน คุณสมบัติ : ทำให้อินทรีย์วัตถุในดินย่อยสลาย และเพิ่มผลผลิตพืช กระตุ้นการแตกตัวของพืช

อัตราการใช้ : 50 ซีซี ค่อน้ำ 20 ลิตร



ชีวภัณฑ์ที่พัฒนาแล้ว



นิวทรีครอป (Nutri-Crop)

ประโยชน์ : ใช้กับพืชทุเรียน กระตุ้นให้พืชมีการสร้างระบบรากมากขึ้น กระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตและปริมาณเนื้อในผลทุเรียน

อัตราการใช้ : ใช้ 50-50 ซีซี ค่อน้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบ ฉีดทุก 7-15 วัน สามารถใช้ร่วมกับสารชีวภาพ และสารเคมีเกษตรอื่นๆได้

นิวทรีครอปผง (Nutri-Crop-Powder)

ประโยชน์ : กระตุ้นให้พืชมีการสร้างระบบรากมากขึ้น กระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตและปริมาณเนื้อในผลทุเรียน

อัตราการใช้ : ใช้ 50-50 กรัม ค่อน้ำ 20 ลิตร



14

ดร.พร.เกษม สวัสดิ์ทอง
สาขาการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

15

ดร.พร.เกษม สวัสดิ์ทอง
สาขาการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ชีวภัณฑ์ที่พัฒนาแล้ว



นาโนเอลิคิเตอร์ (Nono Elicitor)

สารออกฤทธิ์ : สารสกัดจากธรรมชาติ และจากเชื้อ คีโตไมยม ไคโรโตเคอร์มา
คุณสมบัติ : ใช้เพื่อสร้างภูมิคุ้มกันโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย
วิธีการใช้ : ฉีดพ่นในอัตรา 30-50 ซีซี ต่อ น้ำ 20 ลิตร พ่นเช้าเย็น ฉีดพ่นในระหว่างแดดออกๆ ดินพืชที่ไม่มีอาการโรค ใช้ฉีดพ่นทุก 15 วัน ช่วงที่มีการระบาดใช้ฉีดพ่นทุก 7 วัน

ไบโออินเซก (Bio-Insec)

สารออกฤทธิ์ : เป็นสารอินทรีย์ธรรมชาติ น้ำส้มควันไม้และอื่นๆ รวมถึงจุลินทรีย์กำจัดแมลง
ประโยชน์ : ใช้กับพืชที่มีการระบาดของแมลงได้แก่ หนอนกระทู้ เทียนไฟ ไรแดง เพลี้ยจักจั่น เป็นต้น
วิธีการใช้ : 30-50 ซีซี ต่อ น้ำ 20 ลิตร พ่นเช้าเย็นฉีดพ่นให้ทั่วต้นทุก 7-15 วัน สามารถใช้ร่วมกับสารอินทรีย์ และสารเคมีเกษตรอื่นๆได้



ทำไมต้องปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ?

- ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. เป็นปุ๋ยอินทรีย์แท้ 100% ไม่มีการผสมดิน กรวด หรือ หิน
 - มีธาตุอาหารครบ 13 ธาตุ ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง
 - มีความเป็นกลาง คือ มีค่า pH อยู่ประมาณ 7 ซึ่งการมีค่า pH อยู่ประมาณ 7 นั้นจะช่วยให้การปรับปรุงดินที่เป็นกรดให้มีความเป็นกลางมากขึ้น
 - ใช้ระบบการหมักที่ได้มาตรฐาน และมีการควบคุมคุณภาพตลอดการหมัก (ดูในกระบวนการผลิต)
- ราคาถูกกว่าปุ๋ยอินทรีย์ตามท้องตลาดทั่วไป

16

สาขาการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

17



ปุ๋ยอินทรีย์ กทม.

● ประโยชน์ของปุ๋ยอินทรีย์ กทม.

ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. มีสารอินทรีย์วัตถุมากส่งผลโดยตรงต่อการปรับปรุงสภาพดิน ทำให้ดินร่วนซุย ง่ายต่อการซึมน้ำของราก

สารอาหารครบถ้วนทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ทำให้พืชเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่

มีค่า pH เป็นกลาง ช่วยในการปรับดินที่มีสภาพเป็นกรดให้เป็นกลาง และเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช

มีการหมักตัวที่สมบูรณ์ทำให้ต้นพืชสามารถนำธาตุอาหารต่างๆ ในปุ๋ยไปใช้ได้ทันทีหลังจากใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กทม.

18



วิธีการใช้เชื้อรา *Chetomium* spp. ในแปลงปลูก

เกษตรกรต้องสังเกตต้นทุเรียนตั้งแต่เริ่มแสดงอาการต้นไหม้ จึงฉีดพ่นชีวภัณฑ์บริเวณดินรอบรากและโคนต้น และหากต้นทุเรียนมีอาการรุนแรงมีอาการต้นไหม้และใบเหลือง (เฉพาะกิ่ง) อย่างเห็นได้ชัด ทำการตัดกิ่งก้านที่มีอาการไหม้ ออก เพื่อช่วยให้ต้นทุเรียนมีการฟื้นตัวที่ดีขึ้น หากฉีควัเชื้อรา *Chetomium* spp. บริเวณที่แสดงอาการแล้ว (เปลือกแตก) ออกจนหมด จากนั้นทาผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Chetomium* spp. ลงบนแผลที่ ร่องจนต้นทุเรียนฟื้นตัว

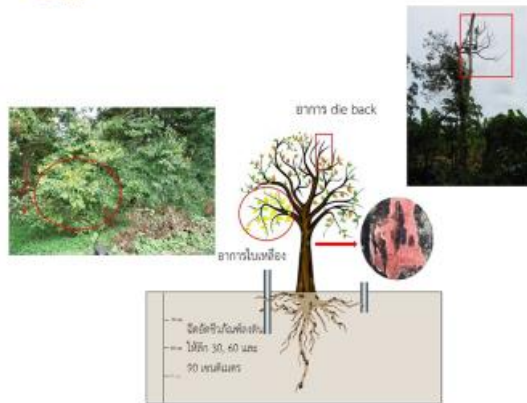


19





วิธีการใช้เชื้อรา *Chetomium* spp. ในแปลงปลูก

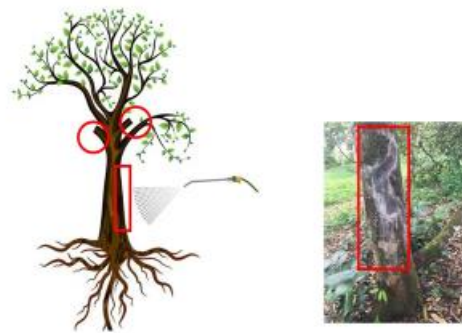


ลักษณะอาการของโรครากเน่าที่รุนแรงแบบต่างๆ ได้แก่ อาการรากเน่า ใบเหลืองเฉพาะกิ่ง อาการแห้งตายจากยอด ลำต้นเน่า เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการจัดการด้วยวิธี biotechnique อย่างมีประสิทธิภาพ และแสดงระดับความลึกของการติดเชื้อในดินรอบบริเวณราก

20



วิธีการใช้เชื้อรา *Chetomium* spp. ในแปลงปลูก



การจัดการโรครากเน่าด้วยวิธี biotechnique ในกรณีที่มีความรุนแรง โดยแสดงอาการดินโทรมมากกว่าร้อยละ 50 ของดิน แสดงการตัดกิ่งที่แสดงอาการใบเหลือง (วงกลม) การฉีดพ่นและทาเชื้อราบริเวณลำต้นที่แสดงอาการเน่า (สี่เหลี่ยม)

21



การฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนโดยการหาชีวภัณฑ์บริเวณที่เป็นโรค



- ลักษณะของเนื้อไม้ได้เปลี่ยนที่แสดงอาการเน่า ซึ่งจะต้องทำการขุดเนื้อไม้ส่วนนอกออก โดยไม่ทำลายชั้น cortex เพื่อให้ยังสามารถฟื้นฟูดินได้
- หากผลิตภัณฑ์ได้เหมือนเช่นบริเวณแผลที่ทำการขุดเนื้อไม้ที่ติดเชื้อ
- ลักษณะแผลบนลำต้นหลังจากการรักษาด้วยวิธี biotechnique เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเนื้อไม้มีลักษณะแห้ง
- ลักษณะแผลบนลำต้นหลังจากการรักษาด้วยวิธี biotechnique เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าเนื้อไม้รอบแผลมีการเจริญเติบโตบริเวณรอบแผล

22



เอกสารอ้างอิง

- กรมประชาสัมพันธ์ กระทรวงการต่างประเทศ 2548. งานมหกรรมทุเรียนโลก 2548. ข้าว-ข้าวและข้อมูลจากส่วนราชการ กระทรวงการต่างประเทศ. 5 มิถุนายน พ.ศ. 2548. สืบค้นเมื่อ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2551.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. ทุเรียน. แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/fruits/index.php/durian-data> ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561.
- เกวลิน คุณาศักดากุล. 2556. เทคนิคโรคพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2 หน้า.
- เกษม สร้อยทอง และชลฎา สติวัฒน์นัย. 2536. การควบคุมโรคเน่าระดับคอดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. โดยชีววิธี. ใน รายงานการประชุมวิชาการวิทยาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1. โรงแรมรามาคาร์เด็นส์. กรุงเทพฯ. หน้า 214-221
- เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ก. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ข. การใช้รา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. *วารสารโรคพืช*, 9(1) : 28-33.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ค. การควบคุมโดยชีววิธีของโรคโคนเน่าข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่. *วารสารโรคพืช*, 9(2-4) : 47-55.
- เกษม สร้อยทอง. 2533. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cochliodes* และ *Ch. Cuniculorum* ใช้ในการป้องกันโรคใบไหม้ของข้าว (Rice Blast) สาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*. *วารสารแก่นเกษตร*, 18(2) : 15-17.
- เกษม สร้อยทอง. 2534ก. การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศเกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* โดยชีววิธีในสภาพไร่. *วารสารโรคพืช*, 11(3-4) : 79-78
- เกษม สร้อยทอง. 2534ข. การใช้รา *Chaetomium gracile* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* . *วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*, 8(2) : 1-7
- เกษม สร้อยทอง. 2534ค. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดหวาน. วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534, รายงานผลการ วิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 9. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 269-275.
- เกษม สร้อยทอง. 2535. การใช้ยาที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช. *Bangpra Center Journal*, 29(2) : 13-16.

- เกษม สร้อยทอง. 2536. การพัฒนา *Chaetomium cupreum* เป็นยาเชื้อป้องกันเชื้อราในดินเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศโดยชีววิธี. วันที่ 20-22 ตุลาคม 2536, ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1. โรงแรมรามารการ์เด็นส์. กรุงเทพฯ. หน้า 375-387.
- เกษม สร้อยทอง. 2539. รายงานการวิจัยเรื่อง การควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* โดยใช้สารสกัดจากรา *Chaetomium cupreum*. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 44 หน้า.
- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2538. โรครากและโคนเน่าของพืชที่เกิดจากราขึ้นต่ำ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีในการปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน และภายในโรงเรือน จัดโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (ชุดโครงการ-การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน) และคณะเทคโนโลยี การเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2547 ณ อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- ทวี เกาศิริ. 2018. 25 ปี สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. แหล่งข้อมูล:<https://www.thaigreenagro.com/phytophthora>. ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561.
- ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2543. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร. 317 หน้า.
- เพียว อินทสุวรรณ. 2552. อนุกรมวิธานพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยทักษิณ
- พรพรรณ อยู่สุวรรณ. 2544. การควบคุมโดยชีววิธีและการจัดการโรคส้มแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 180 หน้า.
- มานิตย์ ทองหอม. 2553. การปลูกทุเรียน. อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 315 หน้า.
- วิเชียร ดีทอง. 2544. การควบคุมและแมลงศัตรูส้มโชกุนโดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 119 หน้า.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. ทุเรียน. แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/durian60.pdf>. ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561.
- สนชัย เพ็ชรพรหม. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler โดยวิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 120 หน้า.

- สุมิตรา น้อยเอี่ยม. 2540. การควบคุมโรคแอนแทรกโนสมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 142 หน้า.
- แสงมณี ชิงดวง. 2555. โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตพริกไทยเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน. กรมวิชาการเกษตร. 37 หน้า.
- หิรัญ หิรัญประดิษฐ์ สุขวัฒน์ จันทรปรณิก และ เสริมสุข สลักเพ็ชร์. 2546. เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 206 หน้า.
- Aggarwal, R., A.K. Tewari, K.D. Srivastava and D.V. Singh. 2004. Role of antibiosis in the biological control of spot blotch (*Cochliobolus sativus*) of wheat by *Chaetomium globosum*. Mycopathologia 157: 369–377.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (Fifth Edition) Elsevier Academic Press. New York.
- Agrios, G.N. 2005. Plant pathology 5th ed. Department of Plant Pathology University of Florida.
- Anitha, R. and Murugesan, K. 2001. Mechanism of action of *Gliocladium virens* on *Alternaria helianthi*. Indian phytopath. 54: 449-452.
- 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.
- Ashby, S.F. 1929. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (P. faberi Maubl.). Transactions of the British Mycological Society, 14: 18–38.
- Baker, K.F., R.J. Cook and S.D. Garrett. 1974. Biological control of plant pathogens. W.H. Freeman and Company, 433 pp.
- Bekker, T., N. Labuschagne, T. Aveling and C. Kaiser. 2007. Inhibition of *Phytophthora* root rot of avocado with potassium silicate application. Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate) 2007. Viña Del Mar, Chile. 12 – 16 Nov. 2007. ISBN No 978-956-17-0413-8.
- Benitez, T., M.A. Rincon, M.C. Limon and C.A. Codon. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International microbiology, 7(4): 249-260.
- Brasier, C.M. 1991. Current questions in *Phytophthora* systematics: The role of the population approach. In *Phytophthora* (J. A. Lucas, R. C. Shattock, D. S. Shaw, and L. R. Cooke, Eds.), pp. 104–128. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Briard, M., Dutertre, M., Rouxel, F. and Brygoo, Y. 1995. Ribosomal RNA sequence divergence within the Pythiaceae. Mycol. Res. 99: 1119–1127.

- Bruns, T.D., White, T.J. and Taylor, J.W. 1991. Fungal molecular systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525–564.
- Chang I. P. and T. Kommedahl. 1968. Biological control of seedlings of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. *Phytopathology* 58: 1395-1401.
- Chen, W., H.A.J. Hoitink and F. Schmitthenner. 1987. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with compost. *Phytopathology* 77: 755-760.
- Chen, W., Hoitink, H.A.J. and Schmitthenner, F. 1987. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with compost. *Phytopathology* 77: 755-760.
- Chivers, A.H. 1912. Preliminary diagnoses of new species of *Chaetomium*. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences.* 48(4):83-88.
- Choi, Y.W., Hyde, K.D. and Ho, W.H. 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal Diversity* 3: 29-38.
- 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., Drenth, A., Duncan, J.M., Wagels, G. and Brasier, C.M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30: 17-23.
- 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.
- Cullen, D. and J.H. Andrews. 1986. Evidence for The Role Antibiosis in The Antagonism of *Chaetomium globosum* to The Apple Scab Pathogen, *Venturia inaequalis*. *Can. J. Bot.* 62 : 1819-1823.
- Di Pietro A., M. Gut-Rella, J. P. Pachlatko and F. T. Schwinn. 1991. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium utimum*, a causal agent of damping-off. *Phytopathology.* 82: 131-135.
- Domsch, K.H., W. Gams and T. W. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi.* Academic Press. 859 pp.
- 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, 154-160.

- 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.
- Drenth, A., and Guest, D.I. (Eds). 2004. Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. A.C.I.A.R. Monogr. Ser. 114: 1-238.
- Emer, O.G., S. Sangchote, L. Fitzgerald, D. Wood, A. Seng, and D. I. Guest. 2004. Infection Biology of *Phytophthora palmivora* Butl. in *Durio zibethinus* L. (Durian) and Responses Induced by Phosphonate. P.42-52. In: Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. BPA Print Group Pty Ltd, Melbourne, Australia.
- Environment and Climate Change Canada Health Canada. 2017. Final Screening Assessment of *Chaetomium globosum* strain ATCC 6205. Government of Canada, Canada.
- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press. 562 p.
- Fogle, M.R., D.R. Douglas, C.A. Jumper and D.C. Straus. 2007. Growth and mycotoxin production by *Chaetomium globosum*. Mycopathologia 164:49–56.
- Forster, H., Cummings, M.P. and Coffey, M.D. 2000. Phylogenetic relationships of *Phytophthora* species based on ribosomal ITS I DNA sequence analysis with emphasis on Waterhouse groups V and VI. Mycol Res 104: 1055–1061.
- Godfrey, S.A.C., Monds, R.D., Lash, D.T. and Marshall, J.W. 2003. Identification of *Pythium oligandrum* using species-specific ITS rDNA PCR oligonucleotides. Mycol. Res. 107: 790–796.
- 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.
- Guest, D. I. 2004. Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. BPA Print Group Pty Ltd, Melbourne, Australia.
- Gunderson, J.H., Elwood, H., Ingold, A., Kindle, K. and Sogin, M.L. 1987. Phylogenetic relationships between chlorophytes, chrysophytes, and oomycetes. Proc Natl Acad Sci USA 84: 5823–5827.
- Hall, G. 1993. An integrated approach to the analysis of variation in *Phytophthora nicotianae* and a redescription of the species. Mycol. Res. 97: 559-574.
- Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2: 43-56.

- Himamana, W., A. Thamchaipenet, W. Pathom-areed and K. Duangmala. 2016. Actinomycetes from Eucalyptus and their biological activities for controlling Eucalyptus leaf and shoot blight. *Microbiological Research* 188: 42–52.
- Hine, R.B., O.V. Holtzmann and R.D. Raabe. 1965. Diseases of papaya in Hawaii. *Hawaii Agric. Exp. Stn. Bull.* 136: 1-26.
- Ho, H.H., P.J. Ann and H.S. Chang. 1995. The genus *Phytophthora* in Taiwan. *Inst. Bot. Acad. Sin. Monogr.* 15: 1-15.
- Hoitink, H.A.J. and Fahey, P.C. 1986. Basis for control of soil-borne pathogens with compost. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:93-124.
- Holliday, P. 1980. *Fungus diseases of tropical crops*. Cambridge, UK, Cambridge University Press, 607 pp.
- Hung, P. M., P. Wattanachai and K. Soyong. 2015b. Biological control of Pomelo diseases using *Chaetomium* spp. *Journal of Agricultural Technology* 10(4): 833-844.
- Hung, P.M., P. Wattanachai, K. Soyong and S. Poaim. 2015a. Biological Control of *Phytophthora palmivora* Causing Root Rot of Pomelo Using *Chaetomium* spp. *Mycobiology* 43(1): 63-70.
- Hwang, E., B.S. Yun, Y.K. Kim, B.M. Kwon, H.G. Kim, H.B. Lee, K.S. Baec and S.U. Kim. 2000. Chaetotrocin A, a Novel Chitin Synthase II Inhibitor Produced by *Chaetomium atrobrunneum* F449. *The journal of antibiotic.* 53(3): 248-255.
- Jayasankar, R. and E. Litz. 1998. Characterization of embryogenic mango cultures selected for resistance to *Colletotrichum gloeosporioides* culture filtrate and phytotoxin. *Theor Appl Genet* 96: 823-831.
- Kadooka, J.Y. and Ko, W.H. 1973. Production of chlamydospores by *Phytophthora palmivora* in culture media. *Phytopathology* 63: 559-562.
- Kaewchai, S. and K. Soyong. 2010. Application of biofungicides against *Rigidoporus microporus* causing white root disease of rubber trees. *Journal of Agricultural Technology* 6(2): 349-363.
- Kanokmedhakul, S., K. Kanokmedhakul, N. Phonkerd, K. Soyong, P. Kongsaree and A. Suksamrarn. 2002. Antimycobacterial anthraquinone-chromanone compound and diketopiperazine alkaloid from the fungus *Chaetomium globosum* KMITL-N0802. *Planta Medica* 68(9): 834-836.

- Kanokmedhakul, S., K. Kanokmedhakul, P. Nasomjai, S. Louangsysouphanh, K. Soyong, M. Isobe, P. Kongsaree, S. Prabpai, and A. Suksamran. 2006. Antifungal azaphilones from the fungus *Chaetomium cupreum* CC3003. *J. Nat. Prod.* 69: 891-895.
- Kanokmedhakul, S., Knokmedhakul, K., Nasomjai, P., Louangsysouphanh, S., Soyong, K., Isobe, M., Kongsaree, P., Prabpai, S. and Suksamran, A. 2006. Antifungal azaphilones from *Chaetomium cupreum* CC3003. *Journal of Natural Products* 69: 891-895.
- 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.
- Klakpech P. and K. Soyong. 2000. Application of Biological Products from *Chaetomium* spp. for Controlling of Cycads. 40 in The International Conference Tropical Agriculture Technology for Better Health and Environment: Nakhon Pathom. The Central Laboratory and Greenhouse Complex Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Thailand.
- Kobayashi, N., Kamhangridthirong, T. and Kueprakone, V. 1978. Studies on the soil borne diseases of economic plants in Thailand, with special reference to *Phytophthora* diseases. DOA. Min. of Agric. and Coop, Thailand.
- Kohl, J.W., H.L. van Molhoek and H.J. Fokkema. 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field condition. *Phytopathology* 85: 393-400.
- Kommedahl, T., C.E. Windels, G. Sarbini and H.B. Wiley. 1981. Variability of performance of biological control and fungicidal seed treatments in corn, peas and soybean. *Proceedings in Ecology* 3: 1-5.
- Le'vesque, C.A. and de Cock, A.W. 2004. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycol Res* 108: 1363–1383.
- Lim, T.K. 1998. Durian. In: The new rural industries. A handbook for farmers and investors. Canberra. Hyde, K. (ed): Rural Industries Research and Development Corporation. 281–287.
- Mammella, M.A., Cacciola, S.O., Martin, F. and Schena, L. 2011. Genetic characterization of *Phytophthora nicotianae* by the analysis of polymorphic regions of the mitochondrial DNA. *Fung. Biol.* 115: 432-442.
- Mammella, M.A., Martin, F.N., Cacciola, S.O., Coffey, M.D., Faedda, R. and Schena, L. 2013. Analyses of the population structure in a global collection of *Phytophthora nicotianae*

- isolates inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Phytopathology* 103: 610-622.
- Manandhar, J.B., P.N. Thapliyal, K.J. Cavanaugh and J.B. Sinclair. 1987. Interaction between pathogenic and saprobic fungi isolated from soybean roots and seeds. *Mycopathologia*. 98(2): 69-75.
- Martin, F.N. 2000. Phylogenetic relationships of some *Pythium* species inferred from sequence analysis of the mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 92:711–727.
- Martin, F.N. and Tooley, P.W. 2003. Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of the mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 95: 269–284.
- Matsumoto C, Kageyama K, Suga H, Hyakumachi M. 2000. Phylogenetic relationships of *Pythium* species based on ITS and 5.8S sequences of the ribosomal DNA. *Mycoscience* 40: 321–331.
- Mchau, G.R.A. and M.D. Coffey. 1994. Isozyme diversity in *Phytophthora palmivora*: evidence for a Southeast Asia Centre of origin. *Mycological Research*. 98: 1035-1043.
- 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.
- Nanthachai, S. 1994. Durian — fruit development, postharvest physiology, handling marketing in ASEAN. Kuala Lumpur, Malaysia, Association of South-East Asian Nations (ASEAN) Food Handling Bureau.
- Navaratnam, S. J. 1966. Patch canker of the durian tree. *Malaysian Agricultural Journal* 45: 291-294.
- Oudemans, P., and Coffey, M.D. 1991. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycol. Res.* 95: 1025-1046.
- Park, J.H., G.J. Choi, K.S. Jang, H.K. Lim, H.T. Kim, K.Y. Cho and J.C. Kim. 2005. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum*. *FEMS Microbiology* 252: 309-313.

- 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.
- Phung, M.H., Pongnak, W., Soyong, K. and Poaim, S. 2015. Biological control of *Phytophthora palmivora* causing root rot of Pomelo using *Chaetomium* spp. Mycobiology 43(1): 63-70.
- Pornsuriya, C., K. Soyong, S. Kanokmedhakul and F.C. Lin. 2010. Efficacy of antifungal metabolites from some antagonistic fungi against *Pythium aphanidermatum*. Journal of Agricultural Technology 6(2): 299-308.
- Pornsuriya, C., Lin, F.C., Kanokmedhakul, S. and Soyong, K. 2008. New record of *Chaetomium* species isolated from soil under pineapple plantation in Thailand. Journal of Agricultural Technology 4(2): 91-103.
- Purss, G. S. 1953. The fruit rots of the custard apple. Queensl. J. Agric. Sci. 10:247-265.
- Quyet, N. T., H.V. Cuong, L.T.A. Hong and K. Soyong. 2016. Control mechanism of *Chaetomium* spp and its biological control of Citrus root rot in pot and field experiments in Vietnam. Journal of Agricultural Technology 12(3): 593-600.
- Sanit, S. 2016. Antifungal activity of crude extracts of some medicinal plants against *Fusarium* sp., the pathogen of dirty panicle disease in rice. Journal of Medicinal Plants Research. 10(19): 248-255.
- Santoso, P.J., Aryantha, I.N.P., Pancoro, A. and Suhandono, S. 2015. Identification of *Pythium* and *Phytophthora* associated with Durian (*Durio* sp.) in Indonesia: Their molecular and morphological characteristics and distribution. Asian Journal of Plant Pathology 9(2): 59-71.
- Shanthiyaa, V., D. Saravanakumar, L. Rajendran, G. Karthikeyan, K. Prabakar and T. Raguchander. 2013. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. Crop Protection 52: 33-38.
- Shternshis, M., O. Tomilova, T. Shpatova and K. Soyong. 2005. Evaluation of Ketomium mycofungicide on Siberian isolates of phytopathogenic fungi. Journal of Agricultural Technology 1(2): 247-253.
- Sibounnavong, P., P.S. Sibounnavong, S. Kanokmedhakul and K. Soyong. 2012. Antifungal activities of *Chaetomium brasiliense* CB01 and *Chaetomium cupreum* CC03 against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2. Journal of Agricultural Technology 8(3): 1029-1038.

- Sivapalan, A., Hamdan, F.H., and Junaidy, M.A.H.M. 1997. Patch canker of *Durio zibethinus* caused by *Phytophthora palmivora* in Brunei Darassalam. Pl. Dis. 81: 113.
- Sodsa-art, P. and Soyong, K. 1999. Biological control of black papper root rot and basal stem rot in the field. The 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics, 15-18 March 1999. Kuala Lumpur, Malasia. pp. 145-147.
- Sohi, H.S., K.S. Aulakh and H.S. Randhawa. 1988. Control of seed-borne fungi of cotton by *Chaetomium globosum* and *Epicoccum purpurascens*. Indian J. of Ecology. 15(1): 111-113.
- Song, J.J. and K. Soyong. 2017. *Chaetomium* spp. as biological fertilizer for plant growth. International Journal of Agricultural Technology 13(6):941-951.
- Soyong, K and Soyong, K. 1996. *Chaetomium* as a new broad - spectrum mycofungicide. Biopesticide: toxicity, safety, development and proper use proceeding first internationalsymposium on biopesticides. Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. 27-31 October 1996. pp. 124-132.
- Soyong, K. 1991. Species of *Chaetomium* in Thailand Soils. Journal of plant Protection in the Tropics 11 (3-4): 86-94.
- Soyong, K. 1992. Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*. Journal of Plant protection in the tropics 9: 17-24.
- Soyong, K. 1995. *Chaetomium* as a biocontrol agent plant pathogens. The XII international plant protection congress. The Hague - The Netherland.
- Soyong, K. 2001. Specie of *Chaetomium* in Thailand soils. Thai Phytopathology. 11(3-4): 80-84.
- Soyong, K. and Quimio, T.H. 1989. Antagonism of *Chaetomium globosum* to the rice blast pathogen, *Pyricularia oryzae*. Kasetsart J. (Nat.Sci.) 23:198-203.
- Soyong, 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.
- Soyong, K., Pongnak, W. and Kasiolarn, H. 2005. Biological control of Thielaviopsis bud rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in the field. International Journal of Agricultural Technology 1(2): 235-245.
- Soyong, K., S. Kanokmedhakul, V. Kukongviriyapa, and M. Isobe. 2001. Application of *Chaetomium* species (*Ketomium*®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. Fungal Diversity 7: 1-15.

- Soytong, K., S. Kanokmedhakul, V. Kukongviriyapa, and M. Isobe. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. *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.
- 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.
- Soytong, K., W. Pongnak and H. Kasiolarn. 2005. Biological control of *Thielaviopsis* bud rot of *Hyophorbe lagenicaulis* in the field. *International Journal of Agricultural Technology* 1(2): 235-245.
- Sreenivasan, T. N., and Quesnel, V. C. 1977. Field differentiation of black pod from other cacao pod diseases. *Trop. Agric.* 54:371-382.
- 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.
- Suzui, T. J., U. Kueprakone, and T. Kamphangridthrong. 1979. *Phytophthora* spp. Isolated from some economic plants in Thailand. Technical Bulletin Tropical Agricultural Research Center. 12: 32-41.
- Suzui, T., Kueprakone, U. and Kamhangridthirong, T. 1976. *Phytophthora* disease on some economic plants in Thailand. DOA. Min. of Agric and Coop, Thailand.
- Tai, L. H. 1971. Studies on *Phytophthora palmivora*, the causal organism of patch canker disease of durian. *Malaysian Agricultural Journal* 48: 1-9.
- 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.
- Thompson, A. 1934. A disease of the durian tree. *Malaysian Agricultural Journal* 22: 369-371.
- Trujillo, E.E. 1970. A *Phytophthora* fruit rot of breadfruit. *Phytopathology* 60: 15-42.
- Tveit and Moore. 1954. Isolates of *Chaetomium* that protect oats from *Helminthosporium victoriae*. *Phytopathology* 44: 686-689.

- Udagawa, S. 1960. A Taxonomic study on the Japanese species of *Chaetomium*. J. Gen. Apol. Microbiol. 6(4): 223-251.
- 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 der Plaats-Niterink A.J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology 21. Baarn, Netherlands: Centraalbureau Voor Schimmelcultures.
- Vannacci, G. and G.E. Harman. 1987. Biocontrol of seed-borne *Alternaria raphani* and *A. brassicicola*. Canadian Journal of Microbiology 33: 850-856.
- Vawdrey, L.L., Langdon, P. and Martin, T. 2005. Incidence and pathogenicity of *Phytophthora palmivora* and *Pythium vexans* associated with durian decline in far northern Queensland. Australasian Plant Pathology 34: 127-128.
- Villa, N.O., Kageyama, K., Asano, T. and Suga, H. 2006. Phylogenetic relationships of *Pythium* and *Phytophthora* species based on ITS rDNA, cytochrome oxidase II and b-tubulin gene sequences. Mycologia 98(3): 410-422.
- Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, R. Marra, S.L. Woo, and M. Lorito. 2008. Trichoderma plant pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40: 1-10.
- von Arx, J. A., J. Guarro, and M. J. Figuera. 1986. The ascomycete genus *Chaetomium*. Beihefte zur Nova Hedwigia. 84: 1-162.
- Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de bary. Mycological Papers. 92: 1-22.
- Waterhouse, G.M. 1974. *Phytophthora palmivora* and some related species. In: Gregory, P.H. ed., *Phytophthora* disease of cacao. London, Longman. 51-70.
- Wather, D. and D. Gindrat. 1988. Biological control of damping-off of sugar beet and cotton with *Chaetomium globosum* or a fluorescent *Pseudomonas* sp. Canadian Journal of Microbiology 34: 631-637.
- Zhang, G., F. Wang, J. Qin, D. Wang, J. Zhang, Y. Zhang, S. Zhang and H. Pan. 2013. Efficacy assessment of antifungal metabolites from *Chaetomium globosum* No.05, a new biocontrol agent, against *Setosphaeria turcica*. Biological Control 64:90-98.