ผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ

นางสุธามาศ ณ น่าน[๑/] นายปฏิพัทธ์ ใจปิน[๑/] นายสนอง จรินทร[๑/] นางสาวบุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว[๒/]

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม ๕๖ - กันยายน ๕๗ ใช้วิธี soil dilution spread plate บนอาหาร Martin's medium เพื่อแยกรา *Trichoderma* จากดินในสวนส้มโอ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย และ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ สามารถแยกได้รา *Trichoderma* บริสุทธิ์จำนวน ๔๔ isolates สำหรับรา *P. citricarpa* แยกด้วยวิธี tissue transplanting จากใบและผลส้มโอที่มีอาการโรคจุดดำ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เส้นใยของราสาเหตุโรคเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน PDA ค่อนข้างช้า ดังนั้นจึงทดสอบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อดังกล่าว โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ๘ กรรมวิธี ๕ ซ้ำ กรรมวิธีคืออาหารเลี้ยงเชื้อรา ๘ ชนิด ได้แก่ PDA, PSA, PoDA, CA, MEA, OMA, V๘ และ WA เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยบนอาหารหลังจากบ่มเชื้อ ๑๔ วัน พบว่าเส้นใยของรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร OMA เท่ากับ ๙๘.๒ % รองลงมาคือ อาหาร PoDA, และ PSA เจริญเท่ากับ ๙๖.๔, และ ๘๘.๙ % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการเจริญเส้นใยของราบนอาหารทั้ง ๓ ชนิด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *P. citricarpa* โดยวิธี Dual culture test คัดเลือกรา *Trichoderma spp.* จำนวน ๑๗ ไอโซเลทที่แสดงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรค เมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๓ วัน ปรากฏว่ารา ๗ ไอโซเลท ได้แก่ T๔, T๙, T๑๐, T๑๔, T๒๑, T๒๙ และ T๓๕ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ ๔๓.๓, ๕๐.๐, ๕๐.๐, ๔๖.๗, ๔๓.๓, ๔๓.๓, และ ๕๐.๐% ตามลำดับ และหลังจากบ่มเชื้อครบ ๕ วันพบว่ารา *Trichoderma spp.* ไอโซเลท ๓๕ และไอโซเลท ๑๐ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคจุดดำได้มากกว่าไอโซเลทอื่น คือ ๕๒.๑ และ ๕๑.๐% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับสารชีวภัณฑ์การค้า # ๒

รหัสการทดลอง ๐๑-๗๓-๕๗-๐๑-๐๐-๐๐-๐๒-๕๗

[๑/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

[๒/] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงราย

Abstract

The efficacies of *Trichoderma* spp. in controlling mycelium growth of *Phyllosticta citricarpa*, a causal agent of pomelo black spot disease were examined under laboratory condition at Chiangrai Horticulture research center on ๒๐๑๓-๒๐๑๔. Forty four isolates of

Trichoderma spp. were derived from soil samples of pomelo orchard by soil dilution spread plate on Martin's medium. Pure culture of *P. citricarpa* was isolated from symptom on leaf or fruit of pomelo by using tissue transplanting method. Mycelia growth of *P. citricarpa* on various medium was tested by CRD with ๕ replications and ๘ treatments which are ๘ kinds of agar medium. The result showed that suitable medium are OMA, PoDA, and PSA gave the highly percentage of mycelium growth with ๙๘.๒, ๙๖.๔ and ๘๘.๙% respectively after ๑๔-day incubation on room temperature. *In vitro* screening, ๑๗ isolates of *Trichoderma* spp. effectively inhibited mycelium growth of *P. citricarpa* by dual culture method. After ๓-day incubation, *Trichoderma* spp. isolates T๔, T๙, T๑๐, T๑๔, T๒๑, T๒๙, and T๓๕ gave ๔๓.๓, ๕๐.๐, ๕๐.๐, ๔๖.๗, ๔๓.๓, ๔๓.๓, and ๕๐.๐% of mycelium growth inhibition, respectively. Two isolates of *Trichoderma* spp. are T๓๕ and T๑๐ had shown high percentage of mycelia growth inhibition after ๕-day incubation on room temperature with ๕๒.๑ and ๕๑.๐%, respectively. In addition, statistically gave more effectiveness in inhibiting of mycelium growth than a commercial product # ๒.

Keywords: *Trichoderma* , Black spot disease, Pomelo

คำนำ

โรคจุดดำ(Black spot) จัดเป็นโรคกักกันของสหภาพยุโรป เกิดจากเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) Keily. (Perfect stage) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากเนื่องจากมีรายงานพบระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มทั่วโลก เช่น ประเทศในแถบแอฟริกา อเมริกาใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ แต่ยังไม่มีรายงานพบในสหภาพยุโรป (European Union, ๒๐๐๒) และสหรัฐอเมริกา (Kotze, ๑๙๘๑) จึงจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศในสหภาพยุโรปและสหรัฐอเมริกา ในประเทศไทยพบโรคนี้ระบาดทำความเสียหายแก่ส้มโอในแหล่งปลูก อ.เวียงแก่น ตั้งแต่ปี ๒๕๔๘ ทำให้ผู้ประกอบการไม่รับซื้อส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจากเกษตรกร ผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจะมีผิวเปลือกที่ไม่สวยงาม ตลาดในประเทศรับซื้อในราคาต่ำไม่คุ้มค่ากับการลงทุน ที่ผ่านมาเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมควบคุมโรค ซึ่งเมื่อใช้เป็นเวลานานจะทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเกิดความต้านทานต่อสารเคมี และยังมีข้อเสียหลายอย่างคืออาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค รวมถึงอาจเป็นอันตรายต่อแมลงและจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ นอกจากนี้สารเคมียังสามารถสะสมก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่สามารถลดการระบาดของโรคจุดดำลงได้ ลักษณะอาการของโรคจุดดำปรากฏเป็นจุดแผลขนาดเล็กสีส้มหรือสีแดงขอบแผลสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ต่อมาแผลจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นแผลแห้งตายบริเวณกลางแผลมี pynidia เป็นจุดสีดำขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปอยู่ตรงกลางแผล โดยมีเนื้อเยื่อสีเขียวล้อมรอบแผล สภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค ได้แก่ อากาศร้อน แสงแดดจัด และมีความชื้นสูง เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายใบและผลส้มโอตั้งแต่ระยะติดผลจนอายุผล ๔-๕ เดือน (Chung et al, ๒๐๐๕) สำหรับการป้องกันกำจัดโรคจุดดำที่ได้ผลคือการใช้สารเคมี เช่น azoxystrobin, carbendazim หรือ mancozeb ร่วมกับวิธีการเขตกรรม เช่น ตัด

แต่งกิ่งส้มโอให้ทรงพุ่มโปร่ง การรักษาความสะอาดสวนส้มโอโดยเก็บเศษซากใบและผลที่เป็นโรคเผาหรือฝังทำลายไม่ให้เป็นแหล่งที่อยู่ของเชื้อโรค จะช่วยลดการระบาดภายในสวนได้ (ศรีสุรางค์ และคณะ, ๒๕๕๒)
การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพคือ การใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืช เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เรียกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีกลไกการยับยั้งหรือควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืชโดยสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถทำลายเชื้อโรค (Antibiosis) สามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืช ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตทำลายพืช (competition) นอกจากนั้นยังเข้าไปเจริญอาศัยในเชื้อโรคพืชดูดกินอาหารทำให้เชื้อโรคพืชอ่อนแอและตายในที่สุด (parasitism) รวมทั้งชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค (นิพนธ์, ๒๕๕๓) เชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้ไตรโคเดอร์มายังสามารถผลิตปฏิชีวนสารและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจำพวกเอนไซม์ สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มาคือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช การใช้ราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง (จิระเดช, ๒๕๓๘) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ ให้ได้ราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพดีไปใช้ทดสอบควบคุมโรคจุดดำในแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกที่ อ.เวียงแก่น ให้มีผลผลิตและคุณภาพสูงเป็นที่ยอมรับของตลาดภายในประเทศและตลาดส่งออกทั้งสหภาพยุโรปและตลาดอื่นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรคพืชได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อและเครื่องแก้ว กล้องจุลทรรศน์ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

วิธีการ

๑. สำรวจและเก็บตัวอย่างดินใต้ทรงพุ่มของต้นส้มโอ รวมทั้งเก็บใบหรือผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจากสวนส้มโอใน อ.เมือง, อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย และ อ. เชียงดาว จ.เชียงใหม่
๒. แยกรา *Trichoderma spp*. จากตัวอย่างดินโดยใช้วิธี Soil Plate Dilution บนอาหารแข็งจำเพาะ Martin's medium และจำแนกรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอใช้วิธี Tissue Transplanting บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร PDA (hypha tip isolation)
๓. เพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดเลือกได้ให้รหัสเชื้อแต่ละไอโซเลทและเก็บรักษาไว้ในหลอดอาหารเอียง (PDA slant) เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. citricarpa* ในห้องปฏิบัติการ
๔. คัดเลือกชีวภัณฑ์ราไตรโคเดอร์มาที่ผลิตเป็นการค้าจำนวน ๒ ชนิด เปรียบเทียบกับเชื้อจากการเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกส้มโอในสภาพธรรมชาติ

๕. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราจำนวน ๘ ชนิด สำหรับใช้ทดสอบการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ เพื่อทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยราบนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อ ๘ ชนิด วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย ๘ กรรมวิธี ๕ ซ้ำ กรรมวิธีได้แก่ อาหาร ๘ ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ

๖. ทดสอบผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำใช้วิธี Dual Culture Test บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ได้จากขั้นตอนที่ ๕ เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาการค้า

๗. บันทึกผลการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผลการทดลอง

-เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม ๒๕๕๖ สิ้นสุด กันยายน ๒๕๕๗ (๑ปี)
ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างดินใต้ทรงพุ่มต้นส้มโอจากแหล่งปลูก จ.เชียงราย และเชียงใหม่ได้รวม ๑๕ ตัวอย่าง นำไปแยกเชื้อรา *Trichoderma spp*. โดยใช้วิธี Soil dilution spread plate บนอาหารแข็ง Martin's medium จำแนกได้เชื้อรา *Trichoderma spp*. จากตัวอย่างดินทั้งหมดจำนวน ๔๔ ไอโซเลท และคัดเลือกได้สารชีวภัณฑ์การค้าของราไตรโคเดอร์มาจำนวน ๒ ชนิด สำหรับตัวอย่างโรคจุดดำของส้มโอที่เก็บจากสวนส้มโอในเขต อ. เวียงแก่น จ. เชียงรายและ อ. เชียงดาว จ.เชียงใหม่ สามารถแยกรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ ด้วยวิธี Tissue Transplanting method ได้เชื้อราบริสุทธิ์จำนวน ๓ ไอโซเลท คือ CR-L ๐๑ (ใบส้มโอ จ. เชียงราย) CR-F ๐๙ (ผลส้มโอ จ. เชียงราย) และ CM-F ๐๕ (ผลส้มโอ จ. เชียงใหม่)

ผลทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ บนอาหารเลี้ยงเชื้อราจำนวน ๘ ชนิด ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Sucrose Agar (PSA), Pomelo Dextrose Agar (PoDA), Carrot Agar (CA), Malt Extract Agar (MEA), Oat Meal Agar (OMA), Vegetable-๘ Agar (V๘) และ Water Agar (WA) โดยเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารทั้ง ๘ ชนิด วางแผนการทดลองแบบ CRD มี ๘ กรรมวิธี ๕ ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และวัดการเจริญของเส้นใยราทุกวัน ผลการทดลองในช่วง ๒-๑๐ วันหลังการบ่มเชื้อปรากฏว่าเส้นใยของเชื้อรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร PoDA รองลงมาได้แก่อาหารสูตร OMA, PSA และ PDA ตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลาการบ่มเชื้อที่ ๑๔ วัน พบว่าเส้นใยของรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร OMA มีอัตราการเจริญของเส้นใยเท่ากับ ๙๘.๒ % รองลงมาคือ อาหาร PoDA, และ PSA ซึ่งอัตราการเจริญเท่ากับ ๙๖.๔, และ ๘๘.๙ % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อบนอาหารทั้ง ๓ สูตรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่อาหารสูตรมาตรฐาน PDA ที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราทั่วไป เชื้อรามีอัตราการเจริญ ๘๒.๒ % ซึ่งแตกต่างอย่างชัดเจนกับอาหารสูตร OMA และ PoDA ดังนั้นสรุปได้ว่าสามารถใช้อาหารสูตร OMA, PoDA หรือ PSA ในการทดสอบต่อไป

เนื่องจากอัตราการเจริญของเชื้อรา *P. citricarpa* บนอาหารทั้ง ๓ ชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ ๑)

การทดสอบผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ ใช้วิธี Dual Culture Test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA เลือกใช้อาหารชนิดนี้เนื่องจากระหว่างการทดสอบพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียและราชนิดอื่นน้อยกว่าสูตร OMA และ PoDA นอกจากนั้นอาหาร PSA ไม่มีตะกอนขุ่นทำให้สามารถศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยได้อย่างชัดเจน โดยใช้ราไตรโคเดอร์มาที่แยกได้ จำนวน ๔๔ ไอโซเลท เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์การค้า ๒ ชนิด บันทึกข้อมูล วัดขนาดรัศมีของเส้นใยรา *P. citricarpa* เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา จากสูตร (RC- RT) x ๑๐๐ / RC

RC = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีราไตรโคเดอร์มา (control)

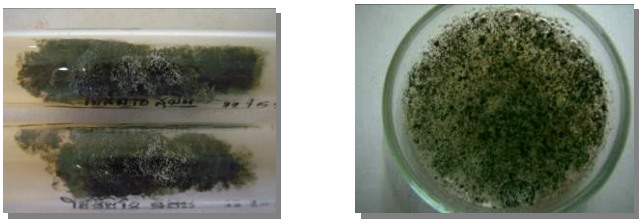
RT = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีราไตรโคเดอร์มา

ผลการทดสอบหลังจากบ่มเชื้อไว้ ๑ วัน พบราไตรโคเดอร์มาจำนวน ๑๗ ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า ๒๐.๐ % ได้แก่ ไอโซเลท ๑, ๒, ๔, ๕, ๗, ๙, ๑๐, ๑๒, ๑๔, ๑๕, ๑๗, ๒๑, ๒๔, ๒๙, ๓๐, ๓๕ และ ๔๐ ขณะที่สารชีวภัณฑ์ทั้ง ๒ ชนิดยับยั้งได้ ๑๐.๕ และ ๑๕.๘ % ตามลำดับ

เมื่อบ่มเชื้อได้ ๒ วัน ราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากกว่า ๓๕.๐ % ลดลงเหลือ ๗ ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท T๙, T๑๐, T๑๔, T๒๑, T๓๐, T๓๕ และ T๔๐ ส่วนสารชีวภัณฑ์ยับยั้งได้ ๑๒.๐-๑๖.๐ % ต่อมาในวันที่ ๓ ของการทดสอบ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* เพิ่มขึ้นเป็น ๔๐.๐ % โดยมีราไตรโคเดอร์มา ๕ ไอโซเลทคือ T๒, T๕, T๗, T๑๒ และ T๓๐ นอกจากนั้นยังพบว่าราไตรโคเดอร์มา ๗ ไอโซเลท ได้แก่ T๔, T๙, T๑๐, T๑๔, T๒๑, T๒๙, และ T๓๕ สามารถยับยั้งการเจริญได้มากกว่าคือตั้งแต่ ๔๓.๓ – ๕๐.๐ %

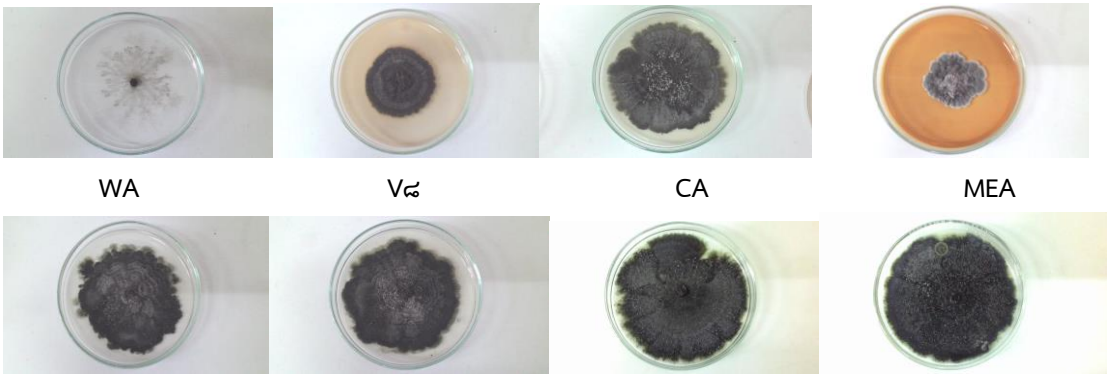
เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มาที่คัดเลือกจำนวน ๑๗ ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ ในวันที่ ๕ ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดสอบ พบว่าไอโซเลท T๓๕ ยังคงมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญได้สูงกว่าไอโซเลทอื่นๆ คือมีการยับยั้งได้ ๕๒.๑% รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท T๑๐ และ T๙ ยับยั้งได้ ๕๑.๐ และ ๕๐.๐% ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสารชีวภัณฑ์การค้า# ๒ ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ได้เท่ากับ ๑๗.๗% (ตารางที่ ๒)

ดังนั้นจึงคัดเลือกราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท T๓๕ และ T๑๐ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ได้ดีนำไปใช้ทดสอบการควบคุมโรคจุดดำร่วมกับวิธีเขตกรรมในแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกที่ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์การค้า ในปีงบประมาณ ๒๕๕๘



(ก) (ข)

ภาพที่ ๑ ลักษณะของเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ เก็บไว้ในหลอดอาหารเอียง PDA (ก) และรา *Trichoderma spp*. แยกจากดินสวนส้มโอ เจริญและสร้างสปอร์สีเขียวบนอาหาร PDA (ข)



ภาพที่ ๒ เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* อายุ ๑๔ วันบนอาหารทดสอบเลี้ยงเชื้อรา ๘ ชนิด

ภาพที่ ๓ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มา ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* โดยวิธี Dual Culture test หลังจากบ่มเชื้อไว้ ๓ วันที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ ๑ อัตราการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอบนอาหารเลี้ยงเชื้อราทดสอบจำนวน ๘ ชนิดในห้องปฏิบัติการ ภายหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา ๒- ๑๔ วัน

ชนิดของ	การเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (%) [๑]				
อาหารทดสอบ	๒ วัน	๔ วัน	๖ วัน	๑๐ วัน	๑๔ วัน
WA	๑๑.๖	๒๖.๐	๓๔.๙	๕๐.๐	๕๗.๘ c [๒]
V ๘	๙.๘	๑๓.๑	๑๖.๔	๒๗.๘	๔๙.๖ c
CA	๑๔.๔	๒๔.๘	๓๘.๑	๖๕.๖	๘๕.๕ b
PDA	๑๕.๑	๒๖.๔	๔๐.๐	๖๙.๔	๘๒.๒ b
PSA	๑๖.๙	๒๘.๙	๔๐.๗	๖๘.๒	**๘๘.๙ ab**
PoDA	๒๐.๐	๔๐.๐	๕๗.๔	๙๑.๔	**๙๖.๔ a**
OMA	๑๘.๗	๓๖.๔	๕๔.๔	๘๒.๒	**๙๘.๒ a**
MEA	๑๕.๕	๒๒.๖	๒๗.๘	๓๗.๒	๕๘.๗ c
CV (%)	-	-	-	-	๙.๕

[๑] การเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ค่าเฉลี่ยจาก ๕ ซ้ำ โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญจากสูตร ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญ} = \frac{(๙ - \text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา}) \times ๑๐๐}{๙}$$

[๒] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ ๒ ประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ ด้วยวิธี Dual culture test ในห้องปฏิบัติการ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา ๑- ๕ วัน

ราไตรโคเดอร์มา	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* [๑]		
ที่ใช้ทดสอบ	๑ วัน	๓ วัน	๕ วัน
Tricho-๑	๒๑.๐	๓๖.๗	๓๗.๕ a
Tricho-๒	๓๖.๘	๔๐.๐	๔๓.๘ a
Tricho-๔	๒๖.๓	๔๓.๓	๔๖.๙ a
Tricho-๕	๒๑.๐	๔๐.๐	๔๓.๘ a
Tricho-๗	๒๑.๐	๔๐.๐	๔๒.๗ a
Tricho-๙	๓๑.๖	๕๐.๐	๕๐.๐ a
Tricho-๑๐	๔๒.๑	๕๐.๐	๕๑.๐ a
Tricho-๑๒	๒๑.๐	๔๐.๐	๔๑.๗ a
Tricho-๑๔	๒๖.๓	๔๖.๗	๔๙.๐ a
Tricho-๑๕	๒๑.๐	๓๖.๗	๓๙.๖ a
Tricho-๑๗	๒๑.๐	๓๓.๓	๓๖.๕ ab
Tricho-๒๑	๒๖.๓	๔๓.๓	๔๑.๗ a
Tricho-๒๔	๒๑.๐	๓๖.๗	๓๘.๖ a
Tricho-๒๙	๒๖.๓	๔๓.๓	๔๕.๘ a
Tricho-๓๐	๒๖.๓	๔๐.๐	๔๔.๘ a
Tricho-๓๕	๓๑.๖	๕๐.๐	**๕๒.๑** a
Tricho-๔๐	๒๑.๐	๓๖.๗	๔๑.๖ a
สารชีวภัณฑ์ #๑	๑๐.๕	๒๖.๗	๓๑.๓ ab
สารชีวภัณฑ์ #๒	๑๕.๘	๒๖.๗	๑๗.๗ b
CV (%)	-	-	๒๖.๔

[๑] คำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา จากสูตร

(RC- RT) x ๑๐๐ / RC RC = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีราไตรโคเดอร์มา
RT = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีราไตรโคเดอร์มา

[๒] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น ๙๕% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รา *Trichoderma* spp. จำนวน ๒ ไอโซเลท คือ T๓๕ และ T๑๐ ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* มากกว่าราไตรโคเดอร์มาไอโซเลทอื่นและสารชีวภัณฑ์การค้า โดยจะนำไปใช้ทดสอบควบคุมโรคจุดดำของส้มโอในสภาพสวนเกษตรกร อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย ซึ่งเป็นแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกในขั้นตอนต่อไป

สำหรับวิธีการนำราไตรโคเดอร์มาไปใช้ควบคุมโรคในสวนส้มโอ เพื่อลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชลงหรือใช้ทดแทน จำเป็นจะต้องมีการทดสอบให้ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมตรงตามความต้องการของเกษตรกร หลักการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีให้มีประสิทธิภาพดีนั้นต้องผสมผสานร่วมกับวิธีอื่นๆ เช่น วิธีเขตกรรม การตัดแต่งกิ่ง จัดการด้านสุขอนามัยของพืชและสวน รวมทั้งการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชตามความจำเป็น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

กลุ่มเป้าหมายคือเกษตรกรผู้ผลิตส้มโอเพื่อการค้า นักวิชาการ นักศึกษาและผู้ที่สนใจทั่วไป

๑๑.คำขอบคุณ (ถ้ามี)

๑๒.เอกสารอ้างอิง

จิรเดช แจ่มสว่าง. ๒๕๓๘. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา : ตอนที่ ๒ หลักการและบทบาท. วารสารเคหการเกษตร.; ปีที่ ๑๙(๑๐); ๑๕๙-๑๖๕.

นิพนธ์ ทวีชัย. ๒๕๕๓. โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. ในสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. (เล่มที่ ๓๕, หน้า ๑๒๙-๑๕๙). กรุงเทพฯ : โครงการสารานุกรมไทย

สำหรับเยาวชนโดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม มนตรี ทศานนท์ สุธามาศ ณ น่าน บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ นภสร ปุญญพิทักษ์ รัตตา สุทธยาคม และไมตรี พรหมมินทร์. ๒๕๕๒. การจัดการโรคจุดดำของส้มโอพันธุ์ทองดีเพื่อการส่งออก.รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม.กองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. ๔๒ หน้า.

Chung, K.P, Peres, N.A. and Timmer, L.W. ๒๐๐๕ Citrus Diseases Exotic to Florida:Black spot. Fact sheet pp-๒๑๓. ๕ p. Http://edis.ifas.ufl.edu.

European Union. ๒๐๐๐. Special requirement of import plants, plant products and other object originating in third countries. Office Journal of European Community. ๑๖๙:๔๔-๔๕.

Kotze', J.M. ๑๙๘๑. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease,

৯৫: ৫৫৫-৫৫০.