การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Controlling Phytophthora Root Rot and Stem Rot of Durian by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์ **พจนา ตระกูลสุขรัตน์**

เพลินพิศ สงสังข์ **ศิริพร วรกุลดำรงชัย**

กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียนมากในจังหวัดจันทบุรี โดยพบทุเรียนเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรงบริเวณโคนต้นเหนือดินและกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด ลักษณะอาการเป็นรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำเป็นลายริ้ว ๆ มีสีน้ำตาลเป็นทางตามเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบร่วงและยืนต้นตายได้ จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Butler(1919) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA เส้นใยมีสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์ หรือรูปไข่ ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของsporangium(a long-breadth ratio)เป็น 1.80 ภายใน sporangium มีzoosporeจำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน(papilla) เชื้อนี้สร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm(50.43 µm) เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จำนวน 103 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ*P. palmivora* ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912 , 5827, 5832 และ 5837 สร้างวงใสกว้างขนาดตั้งแต่ 10.0 มม. รองลงมาได้แก่ไอโซเลท 5907, 5932, 5937, 5807 และ 5829 สร้างวงใสกว้างขนาดตั้งแต่ 9 มม. และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 34 ไอโซเลทต่อเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธีการ baiting โดยใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 3 ครั้ง ลงไปในดินบ่มเชื้อ(infested soill) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดและกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้หมดโดยไม่พบ sporangium ในดินบ่มเชื้อเลยมีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932 โดยให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค เท่ากับ 0% รองลงมา ได้แก่ 5805 และ 5806 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค คือ 6.25% ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคใน

รหัสการทดลอง 01-09-49-02-01-02-01-51

ปริมาณสูงเท่ากับ 92.50% ต่อมาได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์อีกครั้งจำนวน 30 ไอโซเลทต่อเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธีการ baiting พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท5102 สามารถลดและกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้ดีที่สุดโดยมีปริมาณsporangium ที่มีชีวิตอยู่ในดินน้อยที่สุดเป็น28.75 % อันดับที่2รองลงมาได้แก่ไอโซเลท 5808-1และ 5832 มีปริมาณsporangiumที่มีชีวิตเหลืออยู่ในดิน31.25% อันดับที่3รองลงมาได้แก่ไอโซเลท 5809-1, 5831, 5913และ 5102 มีปริมาณsporangiumที่มีชีวิตเหลืออยู่ในดิน 33.75% โดยไอโซเลท5102, 5808-1 และ 5809-1 เป็นกรรมวิธีที่ทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลของไอโซเลทนี้ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันโดยให้ประสิทธิภาพดีในการลดปริมาณsporangiumที่มีชีวิตในดิน ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบมีปริมาณsporangiumที่มีชีวิตเหลืออยู่ในดิน 98.75% และจากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีจำนวน 9 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท 5102, 5607A, 5807-1, 5907, 5908, 5923, 5932, 5808-1 และ 5809-1 ในการก่อให้เกิดโรคบนใบทุเรียน พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับทุเรียนมีจำนวน 3 ไอโซเลทได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932 ทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผล ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนโดยไม่ทำให้ทุเรียนเกิดโรคได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5808-1 และ 5809-1 ซึ่งจากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ไปจำแนกชนิดด้วยวิธี 16S rDNA พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strainWD20 ไอโซเลท5808-1 และ 5809-1 เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันทั้งสองไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8 จากการทดลองเหล่านี้ทำให้ได้ชนิดและสายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจงของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีและปลอดภัยในการนำไปขยายผลเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนต่อไป

คำนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae เชื่อว่าทุเรียนมีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทุเรียนในประเทศไทยเข้าใจว่าคงนำพันธุ์มาจากมาเลเซียเข้ามาปลูกในสมัยกรุงศรีอยุธยาและในระยะแรกคือทุเรียนพันธุ์พื้นเมือง(มนัส.2545) ในปัจจุบันทุเรียนจัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จนได้รับการยกย่องให้เป็น” ราชาแห่งผลไม้” (นายดำ,2535) พันธุ์ที่ชาวสวนนิยมปลูกมากที่สุดคือหมอนทอง(53.98 %) ชะนี(37.30 %) ก้านยาว(5.75%) กระดุม(2.97 %) (นิรนาม, 2535) ในปี 2550 ไทยส่งออกทุเรียนปริมาณ 170,998 เมตริกตัน มูลค่า 3,064.875 ล้านบาท โดยส่งออกเป็นทุเรียนสด แช่แข็งและแปรรูป (อบแห้งและกวน) (นิรนาม,2550)

โรครากเน่าและโคนเน่าเป็นโรคที่มีมานานมากกว่า 30 ปีและสร้างความเสียหายตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันมากกว่า 40,000 ไร่ (นิรนาม,2537) การป้องกันกำจัดมีหลายวิธี ถึงแม้จะใช้ต้นตอต้านทานโรคร่วมกับการใช้สารเคมี การระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนก็ยังคงเกิดขึ้นอยู่เป็นประจำ ซึ่งการใช้

สารเคมีสามารถควบคุมโรคได้ในระยะสั้นๆ เท่านั้น การควบคุมโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งจะนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งในปัจจุบันมีการจำหน่ายเชื้อราไตรโคเดอร์มาช่วยลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า แต่การระบาดของโรคก็ยังคงมีอยู่และยังเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่น ๆ ที่เฉพาะเจาะจงซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ให้เกษตรกรมีทางเลือกและวิธีการที่ดีในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน, ต้นทุเรียนและดินปลูก
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ RNV, PDA, PSA, น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ, แอลกอฮอล์
3. ดินอบฆ่าเชื้อ , ข้าวโอ๊ต และถ้วยพลาสติก ขนาด 12X12 เซนติเมตร
4. กล้องจุลทัศน์ และวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน

1.1. สำรวจแหล่งปลูกทุเรียนที่มีการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่า

1.2. ทำการแยกเชื้อจากต้นทุเรียนที่เป็นโรคในแปลงปลูก โดยใช้มีดขูดลอกผิวเปลือกภายนอกบริเวณที่เป็นโรคทิ้ง

1.3 ใช้มีดที่สะอาดลอกบริเวณเนื้อเยื่อภายในที่เป็นโรคและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 2 - 3 มม. และนำไปวางบนอาหารเฉพาะ RNV

1.4 จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน สังเกตุดูเส้นใยของเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV

1.5 นำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ในข้อ1.4 มาเลี้ยงขยายบนจานอาหาร PDA

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

1. ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อลอกเอาเส้นใยของเชื้อราสาเหตุซึ่งเลี้ยงขยายบนจานอาหารในข้อ1.5 นำมาแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่ใส่ในจานอาหาร
2. นำจานอาหารที่มีเชื้อราสาเหตุในข้อ1 เข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 18^0ซ. เป็นเวลา 1 ชม.
3. จากนั้นนำเส้นใยของเชื้อสาเหตุมาเขี่ยเชื้อลงบนแผ่นสไลด์เพื่อตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโดยตรวจและวัดขนาดของ sporangium, chlamydospore จำนวน 50 สปอร์และหาค่าเฉลี่ย

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค

1. ตัดชำใบทุเรียนแล้วใช้สำลีพันก้านใบด้วยวิธี detached leaf จากนั้นนำมาวางในกล่องพลาสติกใสที่มีกระดาษฟางที่เปียกวางให้ความชื้น

2. นำ cork borer มาเจาะทำแผลบนใบทุเรียนโดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้างๆ ละ 1 จุด

3. นำ cork borer มาเจาะบนเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ที่เลี้ยงบนจานอาหารในข้อ 1.5 แล้วนำไปวางบนใบทุเรียนที่จุดแผลเตรียมไว้ในข้อ 2 ข้างละ 1 ชิ้น

4. ส่วน control นำอาหารที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อมาเจาะวางบนใบทุเรียนโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2และ 3

5. ตรวจผลการทำให้เกิดโรคบนแผลที่ปลูกเชื้อราสาเหตุและ control

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

3.1 โดยวิธีบด

1. นำใบทุเรียนและส้มโอมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 1 กรัมบดกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล.

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. .ใช้เข็มเขี่ยหัวกลม (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแตะในน้ำใบทุเรียนและส้มโอบดในข้อ1 แล้วนำมาลากบนจานอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 โดยลากไปรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony) และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2 โดยวิธีตัดชิ้นใบ

1. นำตัวอย่าใบทุเรียนมาตัดให้มีขนาด 3-5 มม. และนำมาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. นำใบทุเรียนในข้อ1 มาวางบนขอบจานอาหารที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 จานละ 4 จุดรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุและบ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony) และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.3 การแยกเชื้อจากดิน

1. นำตัวอย่างดินมา 1 กรัมใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล.แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่อง vortex mixer

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. .ใช้เข็มเขี่ยหัวกลม (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแตะในสารละลายของดินในข้อ1 แล้วนำมาลากบนจานอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 โดยลากไปรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony)และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

4. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าที่แยกได้บนจานอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

4.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในหลอดอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาใส่น้ำ 9 มล. และขูดเชื้อออกจากอาหาร แล้วนำมาปั่นให้เข้ากันด้วย vortex mixer

4.3 ดูดสารละลายของเชื้อในข้อ 4.2 ด้วย micropipette จำนวน 2 ไมโครลิตร มาหยดบนกระดาษทดสอบ(paper disc) ที่นึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำกระดาษทดสอบมาวางที่ขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมในข้อ 4.1 โดยวางให้ห่างจากขอบจานอาหารทั้ง 4 ด้านด้านละ 1.5 ซม.

4.4 ในกรรมวิธีเปรียบเทียบจะดูดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อหยดบนกระดาษทดสอบที่นึ่งฆ่าเชื้อและดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 4.3

4.5 นำจานอาหารในข้อ 4.3 และ4.4 มาบ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเติบโตเต็มจานอาหาร

4.6 ทำการตรวจวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุ เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และบริเวณยับยั้ง

5. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี Baiting technique

5.1 การเตรียมดินบ่มเชื้อ เตรียมอาหาร oat meal medium โดยนำข้าวโอ๊ต 5 กรัม/น้ำ 20 มล. ใส่จานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มาเลี้ยงบนอาหาร oat meal medium ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อใช้เวลาประมาณ 10 วัน จากนั้นนำไปปั่นในอัตราส่วนเชื้อรา 1 จานอาหาร / น้ำ 200 มล. และนำไปคลุกกับดิน 1 ก.ก. ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง บ่มเชื้อในดิน 4 สัปดาห์

5.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหาร PSA โดยวิธีการstreak plate ให้เต็มจานอาหาร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานอาหารนำไปผสมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มล.

5.3 ชั่งดินบ่มเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 5.1 จำนวน 50 กรัม ใส่ในถ้วยพลาสติก ขนาด 12 X 12 ซม. แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ 5.2 ลงไป โดยใส่รวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบให้เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มล. โดยไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ทุกกรรมวิธีนำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง

5.4 ตัดใบส้มโอ ขนาด 1 X 1 ซม. ลงไปจำนวน 10 ใบ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วนำใบมาตรวจหา Sporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* ที่ติดอยู่ขอบใบทั้ง 4 ด้าน และใส่ตรวจต่อไปอีก 2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน

5.5 การประเมินและตรวจให้คะแนน Sporangium ที่พบ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่พบ sporangium

ระดับ 1 = พบ sporangium 1 – 10 sporangium/ใบ

ระดับ 2 = พบ sporangium 11 – 20 sporangium/ใบ

ระดับ 3 = พบ sporangium 21 – 30 sporangium/ใบ

ระดับ 4 = พบ sporangium มากกว่า 30 sporangium/ใบ

5.6 นำมาคำนวณวิเคราะห์เปรียบเทียบหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรค เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรค = ผลรวม(ระดับXจำนวนใบที่ baiting ในแต่ละระดับ)X100

จำนวนใบที่ baiting ทั้งหมด X ระดับสูงสุด

6. ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเกิดโรคกับใบทุเรียน

6.1 ตัดชำใบทุเรียนแล้วใช้สำลีพันก้านใบด้วยวิธี detached leaf จากนั้นนำมาวางในกล่องพลาสติกใสที่มีกระดาษฟางที่เปียกวางให้ความชื้น

6.2 นำ cork borer มาเจาะทำแผลบนใบทุเรียนโดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้างๆ ละ 2 จุด

6.3 นำเชื้อแบคทีเรียทีมีความสามารถในการลดปริมาณ sporangium ในข้อ 3 มาเลี้ยงบนจานอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะแล้วนำไปวางบนใบทุเรียนที่ทำแผลเตรียมไว้ในข้อ 4.2 จุดละ 1 ชิ้น

6.4 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบ นำอาหารที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมาเจาะวางบนใบทุเรียนโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 4.2 และ 4.3

6.5 ตรวจผลการทำให้เกิดโรคบนแผลที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียและกรรมวิธีเปรียบเทียบ

7. จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีด้วยวิธี 16S rDNA

โดยส่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปจำแนกที่ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

สถานีทดลองพืชสวนจันทบุรีและแหล่งปลูกทุเรียนของเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี

ห้องปฏิบัติงานกลุ่มเทคโนโลยีการจัดการโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน จากการสำรวจแหล่งปลูกทุเรียนใน จ.จันทบุรี พบโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรง โดยแสดงอาการให้เห็นได้อย่างเด่นชัดตั้งแต่บริเวณโคนต้นเหนือดินและกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด โดยพบมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะ

พบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเยิ้มเป็นทางตามรอยเนื้อไม้หรือเป็นลายริ้ว ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบร่วงและยืนแห้งต้นตายได้

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน ทำให้ได้เชื้อราที่มีเส้นใยสีขาวบางเจริญเติบโตบนอาหารPDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 7 วัน จากการตรวจภายใต้กล้องจุลทัศน์พบว่าเส้นใยไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์ หรือรูปไข่ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium(a long-breadth ratio) เป็น 1.80 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) zoospore จะว่ายน้ำเพื่อหาพืชอาศัยและเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเข้าทำลายพืชต่อไป เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm (50.43 µm) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำให้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Butler(1919)

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน ส่วน control ไม่เป็นโรคใบยังคงปกติ

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากแหล่งปลูกทุเรียนใน จังหวัดจันทบุรี ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการสร้างวงใสขึ้นล้อมรอบเชื้อ *P. palmivora* และเชื้อที่ขึ้นปะปนบนอาหารโดยแยกได้จากทุเรียนจำนวน 29 ไอโซเลท ส้มโอจำนวน 37 ไอโซเลท เชื้อที่เก็บรักษาไว้ 14 ไอโซเลท ถั่วเหลือง 4 ไอโซเลท ทานตะวัน 3 ไอโซเลท มะนาว 5 ไอโซเลท มะม่วง 9 ไอโซเลท ลูกยอ 2 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 103 ไอโซเลท

4. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จำนวน 103 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* โดยให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 60% จำนวน 18 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท 5903, 5904, 5906, 5907, 5908, 5910, 5912, 5913, 5937, 5804, 5805, 5806, 5807-1, 5807-2, 5808-1, 5808-2, 5808-3, 5809-1 และให้บริเวณใสระหว่างเชื้อราสาเหตุและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กว้างขนาดระหว่าง 10.0 - 9.0 มม. จำนวน 10 ไอโซเลทได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912, 5827, 5832, 5837, 5907, 5932, 5937 5807-2 และ 5829 นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในไอโซเลทต่าง ๆ ที่แสดงปฏิกิริยายับยั้งต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* (ตารางที่ 1)

5. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี Baiting technique จากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* มาทดสอบด้วยวิธีการ baiting โดยทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 34 ไอโซเลทพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดปริมาณ sporangium ของเชื้อรา *P.*

palmivora ในดินบ่มเชื้อได้ โดยเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 1 ทำให้จำนวน sporangium ลดลงในทุกไอโซเลท และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท 5908 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 36.25% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5907 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 37.50% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ (Control) มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ100.00% และเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 2 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุดได้แก่ไอโซเลท 5908 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 12.50% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5907 และ 5923 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 13.75% และ15.00 % ตามลำดับ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 96.25% หลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อโดยไม่พบ sporangium ในดินบ่มเชื้อเลยมีจำนวน 8 ไอโซเลทได้แก่ ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 0% รองมาได้แก่ ไอโซเลท5805 และ 5806 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 6.25% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 92.50% (ตารางที่ 2) การทดลองครั้งที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 30 ไอโซเลทพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดปริมาณ sporangium ของเชื้อรา *P. palmivora* ในดินบ่มเชื้อได้ โดยเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 1 ทำให้จำนวน sporangium ลดลงในทุกไอโซเลทเช่นกัน และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท 5809-1 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 46.25% รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 5808 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 48.75% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 100.00% และหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่2 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุดได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5809-1 และ 5831 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 38.75% รองลงมาได้แก่ไอโซเลท 5927 และ 5102 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 41.25% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 96.25% และหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่3 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุดได้แก่ ไอโซเลท 5102 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 28.75% รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 5808-1, 5832, 5809-1, 5831, 5913 และ 5102 มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค31.25%-33.75% กรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 92.50% (ตารางที่ 3) ซึ่งจากการทดลองที่ 1 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้ดีมีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932 จาการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มี

ความสามารถในการลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้ดีมีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5808-1, 5832, 5809-1, 5831, 5913 และ 5102 โดยไอโซเลท5102 ได้ทำการทดสอบเป็นกรรมวิธีซ้ำเพื่อยืนยันผลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์นี้ (ตารางที่ 3)

6. ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเกิดโรคบนใบทุเรียน เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคในดิน จำนวน 9 ไอโซเลทได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923 และ5932 มาทดสอบการเกิดโรคบนใบทุเรียน พบว่า มีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพียง 3 ไอโซเลท ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับทุเรียน ได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผลมีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932

7. จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทีมีประสิทธิภาพดีด้วยวิธี 16S rDNA จากการจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทีมีประสิทธิภาพดีในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน จำนวน 3 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท 5102, 5808-1และ 5809 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 และไอโซเลท5808-1และ 5809 เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันคือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาที่สำคัญมากต่อการปลูกทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี โดยพบโรคนี้ระบาดในสวนทุเรียนจนต้นทุเรียนยืนต้นแห้งตายจำนวนมาก ลักษณะอาการที่พบบริเวณโคนต้นเหนือดินมีรอยช้ำฉ่ำน้ำกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลหรือเป็นลายริ้วเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบสลดเหี่ยวร่วงและยืนต้นแห้งตาย จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* Butler(1919) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA โคโลนีเจริญเติบโตเต็มจานอาหารเป็นเวลา 7 วัน มีเส้นใยสีขาวบาง เส้นใยไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์หรือรูปไข่ ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium(a long-breadth ratio) เป็น 1.80 ภายใน sporangium มี zoospores จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) เชื้อสร้าง chlamydospores รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm (50.43 µm) เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จำนวน 103 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 60% จำนวน 18 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท 5903, 5904, 5906, 5907, 5908, 5910, 5912, 5913, 5937, 5804, 5805, 5806, 5807-1, 5807-2, 5808-1, 5808-2, 5808-3, 5809-1 และให้บริเวณใสระหว่างเชื้อราสาเหตุและ

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กว้างขนาดระหว่าง 10.0 - 9.0 มม. จำนวน 10 ไอโซเลทได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912, 5827, 5832, 5837, 5907, 5932, 5937 5807-2 และ 5829 และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 64 ไอโซเลทต่อเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธี Baiting techniqueพบว่าหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปในดินบ่มเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ครั้ง เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณsporangium ในดินบ่มเชื้อได้ดีที่สุดจนตรวจไม่พบsporangiumของเชื้อราสาเหตุโรคในดินและตรวจพบปริมาณ sporangiumของเชื้อราสาเหตุโรคได้น้อยที่สุดมีจำนวน 12 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923, 5932, 5102, 5832, 5831 และ 5913 และจากการทดสอบการก่อให้เกิดโรคต่อทุเรียนของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 9 ไอโซเลทได้แก่ไอโซเลท5102, 5607A, 5807-1, 5808-1, 5809-1, 5907, 5908, 5923 และ5932 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับทุเรียนมีเพียง 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท5102, 5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทำให้เกิดโรคบนใบทุเรียนโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผลมีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5607A, 5807-1, 5907, 5908, 5923 และ 5932 ซึ่งจากการจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทีมีประสิทธิภาพดีในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและไม่ก่อให้เกิดโรคกับทุเรียนด้วยวิธี16S rDNA sequence analysisจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท 5102, 5808-1และ 5809 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 และไอโซเลท5808-1และ 5809 เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันคือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8 ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้และเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีอยู่ในประเทศไทยและได้รับการคัดเลือกที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนโดยมีความปลอดภัยและไม่เป็นอันตรายต่อต้นทุเรียนได้แก่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท5102 ซึ่งเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* strain WD20 และไอโซเลท 5808-1หรือ 5809ซึ่งเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* strain CMG M8

เอกสารอ้างอิง

มนัส ดาเกลี้ยง. 2545. พันธุ์ทุเรียนเมืองลับแล. คณะ เกษตรศาสตร์และสิ่งแวดล้อม สถาบันราชภัฏอุตรดิตถ์. 17 หน้า

นายดำ ฉิ่งสุวรรณโรจน์. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา.สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.128 หน้า.

นิรนาม. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา.สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.128 หน้า.

นิรนาม. 2537. ทุเรียน. หน้า 38-39 *ใน*:กลุ่มไม้ผล.รายงานประจำปี 2537 สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

นิรนาม. 2550. การส่งออกสินค้าเกษตรไทย ตอนที่2. หน้า19. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี 2550. ศูนย์สาระสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

ภาคผนวก

ตารางที่1 ปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5901	จันทบุรี/ทุเรียน	41.63	1.3
5902	จันทบุรี/ทุเรียน	8.57	0
5903	จันทบุรี/ทุเรียน	65.54	7.3
5904	จันทบุรี/ทุเรียน	64.54	7.4
5905	จันทบุรี/ทุเรียน	5.98	0
5906	จันทบุรี/ทุเรียน	66.73	7.3
5907	จันทบุรี/ทุเรียน	64.74	9.9
5908	จันทบุรี/ทุเรียน	65.14	10.3
5909	จันทบุรี/ทุเรียน	4.58	0
5910	จันทบุรี/ทุเรียน	63.15	5.8
5911	จันทบุรี/ทุเรียน	26.69	0
5912	จันทบุรี/ทุเรียน	63.75	10.1
5913	จันทบุรี/ทุเรียน	64.34	8.8
5919	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	6.5
5920	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	6.7
5921	จันทบุรี/ทุเรียน	40.04	0
5922	จันทบุรี/ทุเรียน	55.58	6.1
5923	จันทบุรี/ทุเรียน	51.99	7.1
5926	จันทบุรี/ทุเรียน	52.99	5.9
5927	จันทบุรี/ทุเรียน	53.59	5.0
5928	จันทบุรี/ทุเรียน	46.22	4.6
5930	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	0
5931	จันทบุรี/ทุเรียน	51.59	7.0
5932	จันทบุรี/ทุเรียน	54.76	9.9
5933	จันทบุรี/ทุเรียน	25.90	0
5934	จันทบุรี/ทุเรียน	56.77	7.5
5935	จันทบุรี/ทุเรียน	39.44	0

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5936	จันทบุรี/ทุเรียน	36.65	0
5937	จันทบุรี/ทุเรียน	60.27	9.2
5802-6	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.34	6.3
5803-6	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	56.85	7.1
5803	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.78	7.1
5804	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.53	7.0
5805	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	8.7
5806	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.93	8.4
5807-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.73	7.9
5807-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.53	9.1
5808-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.7
5808-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.5
5808-3	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.3
5809-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	68.13	6.8
5813	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	17.73	0
5814	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	42.23	0
5815	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	0.60	0
5816	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	1.79	0
5817	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	10.76	0
5818	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	16.73	0
5819	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	5.18	0
5820	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	1.79	0
5821	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	3.78	0
5822	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	58.96	0
5823	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	7.17	0
5824	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.58	6.7
5825	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	53.39	5.1
5826	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	55.18	4.8
5827	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.17	10.08
5828	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.13	7.9

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5829	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	57.61	9.5
6830	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	56.61	8.2
5831	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	57.99	8.0
5832	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.36	10.0
5833	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	56.61	8.9
5834	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.13	8.4
5835	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.59	7.9
5836	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	55.19	7.8
5837	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	56.89	10.0
10	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	46.76	4.4
45	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	35.45	2.4
51	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	45.88	3.9
52	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	50.59	4.5
54	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	40.15	0
57	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	48.82	0
58	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	49.85	5.6
61	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	57.5	5.0
65	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	38.68	0
69	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	37.79	1.3
71	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	49.41	4.5
72	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	43.68	2.9
92	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	49.85	4.3
5104	เชื้อที่เก็บรักษาไว้	48.53	3.8
513	ถั่วเหลือง	42.65	3.9
514	ถั่วเหลือง	50.44	4.9
531-3	ถั่วเหลือง	54.26	2.8
5312	ถั่วเหลือง	46.62	3.8
5101-1	ทานตะวัน	47.06	3.3
5102	ทานตะวัน	28.82	0

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5103-2	ทานตะวัน	40.00	1.3
5121	มะนาว	50.59	0
5122	มะนาว	49.26	3.5
5201-4	มะนาว	24.56	0
5505	มะนาว	48.09	4.6
5506	มะนาว	48.09	0
5601	มะม่วง	37.94	0
5603	มะม่วง	30.88	0
5604	มะม่วง	44.12	2.4
5607	มะม่วง	52.65	3.3
5608	มะม่วง	37.35	2.9
5609	มะม่วง	41.76	0
5610	มะม่วง	38.97	0
5612	มะม่วง	36.47	0
5620	มะม่วง	40.00	0
5701	ลูกยอ	35.00	0
5703	ลูกยอ	49.26	3.8

ตารางที่2 ศึกษาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคในดินบ่มเชื้อ (infested soil) ด้วยวิธี (baiting) จำนวน 34 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)
control	24	100.00o	31	96.25p	19	92.50k
61	24	100.00o	30	76.25o	12	36.25h
5607A	3	43.75a	6	17.50a	1	0.00a
5803	18	82.50j-m	18	53.75hij	8	20.00def
5804	14	75.00g-i	12	42.50de	3	8.75b
5805	12	70.00e-h	13	43.75def	2	6.25b
5806	16	76.25h-k	13	43.75def	2	6.25b
5807-1	6	55.00bc	7	26.25b	1	0.00a
5808-1	4	52.50b	4	15.00a	1	0.00a
5809-1	5	52.50b	5	16.25a	1	0.00a
5824	8	86.25lmn	23	60.00klm	9	21.25ef
5825	19	83.75k-m	21	57.50jk	12	36.25h
5826	18	82.50j-m	22	58.75jkl	4	13.75c
5828	19	83.75k-n	25	63.75lmn	12	36.25h
5831	10	66.25def	8	36.25c	5	15.00cd
5832	20	86.25lmn	13	43.75def	11	27.50g
5835	7	61.25cd	10	41.25cd	6	17.50cde
5903	17	78.75i-l	9	40.00cd	10	25.00fg
5904	15	75.00g-j	15	47.50efg	4	13.75c
5906	23	91.25n	19	55.00ijk	14	37.50h
5907	2	37.50a	2	13.75a	1	0.00a
5908	1	36.25a	1	12.50a	1	0.00a
5910	21	87.50mn	29	75.00o	18	62.50j
5912	10	66.25def	14	45.00d-g	6	17.50cde
5913	17	78.75i-l	22	58.75jkl	10	25.00fg
5919	22	90.00mn	24	60.00klm	16	40.00h

ไอโซเลท	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)
5920	18	82.50j-m	28	68.75n	17	51.25i
5922	20	86.25lmn	27	65.00mn	15	38.75h
5923	11	67.50d-g	3	15.00a	1	0.00a
5926	10	66.25def	20	56.25jk	13	37.50h
5927	9	65.00de	11	42.50de	7	17.50cde
5928	18	82.50j-m	26	65.00mn	17	51.25i
5932	11	67.50d-g	5	16.25a	1	0.00a
5934	13	73.75f-i	16	48.75fgh	7	17.50cde
5937	19	83.75k-n	17	50.00ghi	14	37.50h
cv.			4.9%**		5.1%**	
mean			72.856		46.499	

ตารางที่3 ศึกษาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคในดินบ่มเชื้อ(infested soil) ด้วยวิธี (baiting) จำนวน 30 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)
Control	22	100.00k	21	100.00m	19	98.75m
10	20	98.75jk	17	85.00jk	16	67.50jk
61	19	96.25ijk	15	77.50hi	11	48.75h
5102	9	80.00de	1	38.75a	3	33.75abc
5603	16	91.25g-j	15	77.50hi	17	57.50i
5604	22	100.00k	16	82.50ijk	14	63.75j
5608	14	87.50e-h	17	85.00jk	18	77.50l
5610	18	93.75h-k	18	88.75jk	15	66.25jk
5803	8	76.25d	6	53.75cde	7	41.25def
5804	8	76.25d	12	63.75g	8	42.50efg
5808-1	2	48.75a	5	51.25cd	2	31.25ab
5809-1	1	46.25a	1	38.75a	3	33.75abc
5824	12	85.00efg	17	85.00jk	18	77.50l
5826	12	85.00efg	10	61.25fg	7	41.25def
5828	10	81.25de	11	68.50g	6	38.75cde
5831	5	65.00b	1	38.75a	3	33.75abc
5832	13	86.25e-h	3	43.75ab	2	31.25abc
5834	21	100.00k	20	96.25lm	14	63.75j
5837	17	92.50g-k	19	91.25kl	17	70.00h
5906	15	90.00f-i	8	51.50d-g	6	38.75cde
5913	12	85.00efg	9	60.00efg	3	33.75abc
5914	19	96.25ijk	14	75.00h	12	55.00l
5920	10	81.25de	13	65.00g	10	47.50gh
5922	12	85.00efg	11	62.50g	6	38.75cde
5926	3	63.75b	7	55.00c-f	5	37.50cde

ไอโซเลท	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)	ลำดับที่	ค่าความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ(%)
5927	4	65.00b	2	41.25a	4	36.25bcd
5928	11	82.50def	10	61.25fg	9	46.25fgh
5934	6	68.75bc	4	50.00bc	4	36.25bcd
5937	13	86.25e-h	6	53.70cde	4	36.25bcd
5102	7	75.00cd	2	41.25a	1	28.75a
mean		82.30		64.79		48.46
cv.		4.1%**		5.1%**		5.4%**